الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة

دراسة دور N -اسيتيل -بيتا- D-غلوكوزأمينيداز في كشف سوء الوظيفة الكلوية عند مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى

Study of N-acetyl beta-D-glucosamindase role in detection of renal dysfunction in patients with beta thalassemia major

أطروحة قدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في الكيمياء الحيوية السريرية

إعداد الصيدلانية ديزي حموي

إشراف
أ.د. فايزة القبيلي

العام الدراسي
1436هـ/ 2015م

الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا رقم / ٢٦٧٦/ المتخذ بالجلسة رقم /١٩/ تاريخ ٢٠١٥/٦/١

اطلع مجلس البحث العلمي والدراسات العليا على قرار مجلس كلية الصيدلة رقم /٣١٤/ تاريخ ٢٠١٥/٥/١٣

وبعد الرجوع إلى اللائحة التنفيذية لقانون تنظيم الجامعات الصادرة بالمرسوم /٢٥٠/ لعام ٢٠٠٦ .

قرار مجلس جامعة دمشق رقم /٥١٥٤/ص تاريخ ٢٠١١/٥/١٠ بشأن الموافقة على تسجيل رسالة الطالبة

قرار مجلس جامعة دمشق رقم /٦٨٧/ص.م تاريخ ٢٠١٥/٢/١٩ بشأن الموافقة على إلغاء تسمية المشرف المشارك

تستفيد الطالبة من المرسوم رقم /٣٥٨/ تاريخ ٧/ ١٠/ ٢٠١٣وتمنح سنة إضافية اعتباراً من ٢٠١٤/٥/١٠ لغاية ٢٠١٥/٥/١٠

تستفيد الطالبة من المرسوم رقم /٣٣٥/ تاريخ ٢٠١٤/١٠/٢٩ وتمنح سنة إضافية اعتباراً من ٢٠١٥/٥/١٠ لغاية ٢٠١٦/٥/١٠

وبنتيجة المذاكرة قرر مجلس البحث العلمي والدراسات العليا :

الموافقة على تأليف لجنة الحكم على رسالة الماجستير في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة التي أعدتها الطالبة **ديزي حموي** بعنوان : ((دراسة دور N-أسيتيل بيتا – D غلوكوز أمينيداز في كشف سوء الوظيفة الكلوية عند مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى)) بكلية الصيدلة من السادة الأساتذة:

د. عدنان الصباغ	الأستاذ في قسم الأمراض الباطنة	كلية الطب البشري
جامعة دمشق	الاختصاص: أمراض كلية	عضواً
د. فايزة القبيلي	الأستاذ في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة	كلية الصيدلة
جامعة دمشق	الاختصاص : كيمياء حيوية سريرية	عضواً مشرفاً
د. عماد الدين أبو خميس	الأستاذ المساعد في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة	كلية الصيدلة
جامعة دمشق	الاختصاص: الدمويات والمناعيات	عضواً

وذلك وفق ما هو وارد في قرار مجلس الكلية آنف الذكر،،،

ملاحظة: يرجى إرسال نسخة عن الإعلان الخاص بتحديد موعد المناقشة فور صدوره إلى مكتب نائب رئيس الجامعة لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا.

استغرق هذا البحث مدة زمنية من (2011/12/1) حتى (2012/3/15)

تم انجاز البحث في كلية الصيدلة- جامعة دمشق.

جمعت العينات في مركز الثلاسيمية التابع لوزارة الصحة.

اجريت المقايسات في مخبر مستشفى الأسد الجامعي وفي كلية الصيدلة جامعة دمشق.

تاريخ المناقشة 2015/7/29

أعضاء لجنة الحكم:

برئاسة: أ.د.فايزة القبيلي

الفاحص الأول: أ.د. عدنان الصباغ

الفاحص الثاني: أ.م . د.عماد الدين أبوخميس

الشكر

- الشكر الجزيل لكلية الصيدلة ممثلة بعميدها الأستاذ الدكتور عبد الحكيم نتوف ونائب العميد للشؤون الأستاذ الدكتور مصطفى عموري ونائب العميد للشؤون الادارية الدكتورة جمانة الصالح.

- كل الشكر والامتنان لأساتذتي في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة لما قدموه لي من دعم ورعاية أثناء الدراسات العليا ممثلة برئيس القسم الأستاذة الدكتورة فايزة القبيلي.

- لنا الشرف باستضافته في كلية الصيدلة، وله الشكر الجزيل على تفضله بالمشاركة في لجنة الحكم، الأستاذ الدكتور عدنان الصباغ.

- الشكر الجزيل للأستاذ الدكتور عماد الدين أبو خميس لتفضله بالمشاركة في لجنة الحكم.

- قدوتي المثلى، منها تعلمت أن النجاح يسبقه الاجتهاد فقط، لها مني كل الشكر والتقدير الأستاذة الدكتورة فايزة القبيلي.

- كل الشكر لمخبر مشفى الأسد الجامعي ممثلاً بالأستاذة الدكتورة فوزة منعم، لها كل تقدير واحترام

- كل الشكر لمركز الثلاسيمية في العيادات الشاملة ممثلة بالأطباء والمشرفين والمخبريين.

الإهداء

إلى يديه ومبضعيه وروح طالما وضعها على الأكف لأجلي ...أسوتي وعزي

والدي

إلى لحني المقدس،إلى أنشودة الطيعة منذ الأزل، هي ترنيمة الوجود ولها حنين الحنايا

والدتي

إلى من شاركني همومي وأفراحي

أخواتي

إلى الود والوفاء وربيع الحياة، إلى صديقي ورفيق دربي، إلى من علمني الحب والهوى

زوجي جورج

إلى كل الحب الذي لا يمكن أن يتقاسمه سوى الأم وأولادها، إلى من منحني أصدق وأرقى

المشاعر، إلى صفا روحي ونور حياتي

إبني مارك وابنتي لوتشينا

لمحة موجزة عن حياة الباحث

الاسم: ديزي اسبر حموي

تاريخ الميلاد:1986/1/3

العنوان:دمشق-سورية

الجنسية:سورية فلسطينية

الهاتف:00963933653302

البريد الألكتروني:dis.hamwi@hotmail.com

التحصيل العملي:

الشهادة الإعدادية في مدرسة المعونة الخاصة في دمشق عام 2000 م

الشهادة الثانوية في مدرسة المعونة الخاصة في دمشق عام 2003 م

إجازة في الصيدلة والكيمياء الصيدلية من كلية الصيدلة جامعة دمشق عام 2008 م

الخبرة العملية:

مشاركة في الإشراف على الجوانب التطبيقية في كلية الصيدلة لمادة الكيمياء الحيوية السريرية وذلك خلال سنوات الدراسة من عام 2011 م إلى عام 2015 م.

تصريح

الاسم الكامل: ديزي اسبر حموي

مكان و تاريخ الولادة: دمشق/1986

عنوان البحث باللغة العربية:

دراسة دور إنزيم N-اسيتيل -بيتا-D-غلوكوزأمينيداز في كشف سوء الوظيفة الكلوية عند مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى

لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم اقتباسه بالكامل من عمل علمي آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أية جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي داخل أو خارج القطر.

لم يتم قبض أي مبلغ مادي أو مكافأة عينية سواء بشكل مباشر أو غير مباشر مقابل القيام بعمل يمس جوهر هذه الأطروحة أو نتائجها.

أتعهد بأنني لم أقل الا الحقيقة و لم أخف شيئاً تحت طائلة المعاقبة و المحاسبة القانونية و عليه أوقع

التاريخ (5 / 7 / 2015) توقيع الباحث

اسم الباحث الثلاثي

ديزي اسبر حموي

List of contents قائمة المحتويات

القسم النظري

1- المتلازمات الثلاسيمية.....23

1 -1- مقدمة.....23

1-2- الثلاسمية ألفا.....24

1-3-الثلاسيمية بيتا 25

1-3-1- الانتشار والتوزع الجغرافي.....26

1-3-2- التصنيف.....26

1-3-2-1-الثلاسيمية الصغرى.....26

1-3-2-2- الثلاسيمية الوسطى.....27

1-3-2-3- الثلاسيمية الكبرى 27

1-3-3- الفيزيولوجيا المرضية.....28

1-3-4- مضاعفات الثلاسيمية بيتا الكبرى.....29

1-3-4-1- التحميل المفرط بالحديد.....29

1-3-4-2- التبدلات الإشعاعية للعظم.....30

1-3-4-3- فرط نشاط الطحال.....30

1-3-4-4- المضاعفات القلبية.....31

1-3-4-5- المضاعفات الغدية.....31

1-3-4-6- المضاعفات الكبدية.....32

1-3-4-7- المضاعفات الكلوية.....32

1-3-5- التدبير العلاجي.....37

1-3-5-1- تدابير نقل الدم.....37

1-3-5-2- استئصال الطحال.....38

1-3-5-3- المعالجة بخلب الحديد.....38

1-3-5-4- المعالجة الإعراضية.....39

1-3-5-5- زرع نقي العظم.....40

1-3-6-خالبات الحديد والسمية الكلوية.....40
1-3-7- قياس الوظيفة الكلوية.....42
2- إنزيم N-أسيتيل بيتا- D - غلوكوزأمينيداز.....43
2-1- مقدمة.....43
2-2- النظائر الإنزيمية 44
2-3- البنية البروتينية والتعبير الجيني.....45
2-4- التخليق البيولوجي والتعديلات التالية للترجمة.....47
2-5- الدور الحيوي لإنزيم N- أسيتيل بيتا - D - غلوكوز أمينيداز.....50
2-5-1- نوعية الركازة 50
2-5-2- المقرات الفعالة للهكزوأمينيداز والتحفيز.....52
2-5-3- دور البروتين المفعل.....54
2-6- توزع إنزيم N- أسيتيل بيتا - D - غلوكوز أمينيداز 57
2-7- ارتباط إنزيم N- أسيتيل بيتا - D - غلوكوز أمينيداز بالأمراض.....58
2-7-1- أمراض الغانغلوزيد.....58
2-7-2- الأمراض الكلوية.....59
2-7-3- السمية الكلوية للأدوية.....60
2-7-4- السكري.....60
2-7-5- ارتفاع الضغط..... 62
2-7-6 -التهاب المفاصل الروماتويدي 61
2-7-7-الذئبة الحمامية الجهازية.....61
2-7-8- مقدمات الارتعاج.....61
2-7- 9- متلازمة الثلاسيمية.....61
2-8- الآلية الحيوية لارتفاع إنزيم N-أسيتيل -بيتا D-غلوكوزأمينيداز.....62

القسم العملي

1-هدف الدراسة.....64
2- المواد والطرق المستخدمة.....64
2-1-مجموعات الدراسة.....64

2-2-الاعتيان.....66
2-3-الطرق المستخدمة.....67
2-3-1-مقايسة الكرياتينين في البول والمصل.....67
2-3-2- مقايسة اليوريا.....68
2-3-3-مقايسة الغلوكوز.....68
2-3-4-مقايسة الألبومين في البول.....69
2-3-5-مقايسة فيريتين المصل.....70
2-3-6- مقايسة إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوزأمينيداز في البول.....72
3- الدراسة الإحصائية.....75
4- النتائج.....76
4 -1- تعيين الخصائص السريرية لدى أفراد الدراسة.....76
4 -2- تعيين قيم الغلوكوز الصيامي لدى افراد الدراسة.....79
4 -3 - تعيين تراكيز الفيريتين لدى مجموعة المرضى.....80
4 -4 - تعيين قيم متثابتات الوظيفة الكلوية لدى أفراد الدراسة.....80
4 -4 -1- الكرياتينين.....80
4 -4- 2 - اليوريا.....81
4 -4- 3 - الألبومين في البول.....82
4 -4- 4 تعيين قيم إنزيم N - أسيتيل بيتا- D -غلوكوزأمينيداز لدى أفراد الدراسة.....83
4 -5- تقييم تأثير الجنس على تراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة المرضى... 84
4 -6 - تقييم العلاقة بين عمر المريض وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة المرضى 84
4 -7 - تقييم تأثير المعالجة على تراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة المرضى 87
4 -8 - تقييم العلاقة بين تراكيز الفيريتين وتراكيزالمتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة المرضى 96
4 -9 - تقييم الوظيفة الكلوية لدى أفراد الدراسة.....96

4 -10- دراسة علاقة ارتباط إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوزأمينيداز بالمتثابتات الكيميائية الحيوية الأخرى لدى مجموعة المرضى.....98
4 -11- دراسة القيمة الإنذارية للإصابة بسوء الوظيفة الكلوية اعتماداً على فاعلية NAG لدى مجموعة المرضى.....99
4 -12- نتائج حساب قيم الحساسية والنوعية للتنبؤ بسوء الوظيفة الكلوية اعتماداً على فاعلية NAG 101
4-13- نتائج تحديد الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية بناءً على القيمة الحدية لفاعلية NAG 102
4- 14- تقييم الوظيفة الكلوية تبعاً للخصائص السريرية للمرضى.....103
4-14-1- الوظيفة الكلوية والجنس.....103
4-14-2- الوظيفة الكلوية واستئصال الطحال.....104
4 -14-3- الوظيفة الكلوية والمعالجة بخالبات الحديد.....105
4 -14-4- الوظيفة الكلوية ونوع الخالب المستخدم في المعالجة.....106
4 -14-5- العلاقة بين الوظيفة الكلوية وعمر المريض.....107
4 -14-6 - العلاقة بين الوظيفة الكلوية ومدة نقل الدم.....107
4 -14-7 - العلاقة بين الوظيفة الكلوية وقيم الفيريتين.....108
5-المناقشة.....109
6-التوصيات والمقترحات.....118
7- الملخص.....119
8- المراجع.....121

قائمة الجداول List of tables

رقم الجدول	العنوان	رقم الصفحة
الجدول 1	نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين عمر المريض وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.	86
الجدول 2	نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة المعالجة بنقل الدم (بالأعوام) وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.	88
الجدول 3	نتائج مقارنة تراكيز المتثابتات المدروسة (المتوسط±الانحراف المعياري) بين مجموعة المرضى المستأصل طحالهم ومجموعة المرضى غير المستأصل طحالهم.	90
الجدول 4	نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة استئصال الطحال وقيم كل من المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.	91
الجدول 5	نتائج مقارنة تراكيز المتثابتات الكيميائية (المتوسط ± الانحراف المعياري) بين مجموعة مرضى نأخذ خالبات الحديد ومجموعة مرضى لا تاخذها.	92
الجدول 6	نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة العلاج بالخالبات وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى.	93
الجدول 7	نتائج مقارنة تراكيز المتثابتات المدروسة بين المجموعة المعالجة بالخالب Deferoxamin والمجموعة المعالجة بالخالب Deferasirox .	95
الجدول 8	نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى ومجموعة الشواهد.	98
الجدول 9	نتائج حساب المساحة تحت منحنى ROC .	100
الجدول 10	نتائج حساب الحساسية والنوعية لفاعلية NAG.	101
الجدول 11	نتائج تحديد الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية بناءً على القيمة 11.973 وحدة دولية/لتر لفاعليةNAG .	102
الجدول 12	نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين الذكور والإناث لدى مجموعة مرضى الثلاسمية بيتا الكبرى.	103
الجدول 13	نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لاستئصال الطحال.	104
الجدول 14	نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية لم يستأصل طحالهم ومجموعة مرضى ثلاسيمية استؤصل طحالهم .	104

الجدول 15	نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً للمعالجة بخالبات الحديد	105
الجدول 16	نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية لم يعالجوا بالخالبات ومجموعة مرضى ثلاسيمية عولجوا بالخالبات.	105
الجدول 17	نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى المعالجين بالخالبات تبعاً لنوع الخالب المستخدم.	106
الجدول 18	نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية معالجين بالخالب ديفيروكسامين ومجموعة مرضى ثلاسيمية معالجين بالخالب Deferasirox .	106

قائمة الأشكال List of figures

رقم الشكل	العنوان	رقم الصفحة
القسم النظري		
الشكل 1	جينات الغلوبين ألفا وبيتا.	24
الشكل 2	الآليات الممكنة للاعتلالات النبيبية والكبيبية لدى مرضى التلاسيمية .	37
الشكل 3	النظير الإنزيمي HexA .	45
الشكل 5	جين *HEXA*.	46
الشكل 4	النظير الإنزيمي Hex B	47
الشكل 6	جين *HEXB* .	47
الشكل 7	بنية الغانغلوزيد G_{M2}.	51
الشكل 8	بنية الركازة 4-methylumbelliferyl-B-N-acetylglucosaminide .	51
الشكل 9	بنية الركازة 4-methylumbelliferone-N-acetylglucosamine-6-sulfate	52
الشكل 10	ألية التحفيز بمساعدة الركازة بواسطة إنزيم Hex البشري .	53
الشكل 11	ارتباط الغانغلوزيد GM2 مع الموقع الفعال للوحيدة α.	54
الشكل 12	حلمهة الغانغلوزيد GM2 بواسطة إنزيم Hex A وفقدان ثمالة GalNAc لانتاج الغانغلوزيد GM3 .	55
الشكل 13	جين *GM2A*.	55
الشكل 14	تدرك الغانغلوزيد من قبل إنزيم Hex A بوجود البروتين المفعل.	56
القسم العملي		
الشكل 1	النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة.	64
الشكل 2	النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة والجنس	65
الشكل 3	استمارة البحث المستخدمة للحصول على المعطيات الخاصة بكل فرد من أفراد الدراسة	66
الشكل 4	المنحني المعياري للفيريتين.	72
الشكل 5	مبدأ مقايسة NAGase	73
الشكل 6	النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن استئصال الطحال في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى وفقاً لجنس المريض	77
الشكل 7	النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن المعالجة بالخالبات في مجموعة مرضى الثلاسيمية الكبرى من عينة البحث وفقاً لجنس المريض.	78
الشكل 8	النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن نوع الخالب المستخدم في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين خضعوا للعلاج بالخالبات وفقاً لجنس المريض.	79
الشكل 9	المتوسط الحسابي لتراكيز الغلوكوز لدى مجموعات الدراسة.	79
الشكل 10	المتوسط الحسابي لقيم الفيريتين في مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى وفقاً لجنس المريض.	80
الشكل 11	المتوسط الحسابي لتراكيز الكرياتينين لدى مجموعات الدراسة	81

الشكل 12	المتوسط الحسابي لتراكيز اليوريا لدى مجموعات الدراسة	82
الشكل 13	المتوسط الحسابي لمقدار الألبومين في البول لدى مجموعات الدراسة	83
الشكل 14	المتوسط الحسابي لفاعلية NAG وNAG/Cr لدى مجموعات الدراسة	84
الشكل 15	العلاقة بين فاعلية NAG وعمر المريض.	87
الشكل 16	العلاقة بين فاعلية NAG ومدة المعالجة بنقل الدم لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	89
الشكل 17	المتوسط الحسابي لمقدار الألبومين في البول (مغ ألبومين /غ كرياتينين) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لاستئصال الطحال.	89
الشكل 18	المتوسط الحسابي لفاعلية NAG ونسبة NAG/Cr لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لاستئصال الطحال.	90
الشكل 19	العلاقة بين فاعلية NAG ومدة المعالجة بالخالبات لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى الذين عولجوا بالخالبات .	93
الشكل 20	المتوسط الحسابي لمقدار البيلة الألبومينية الزهيدة لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى الذين جرت معالجتهم بالخالبات تبعاً لنوع الخالب المستخدم.	94
الشكل 21	المتوسط الحسابي للفاعلية NAG ونسبة NAG/Cr لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين جرت معالجتهم بالخالبات تبعاً لنوع الخالب المستخدم.	95
الشكل 22	النسبة المئوية لنتائج تقييم الوظيفة الكلوية لافراد الدراسة تبعاً لمجموعتهم	97
الشكل 23	العلاقة بين مقدارالألبومين في البول وفاعلية NAG لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	98
الشكل 24	العلاقة بين الغلوكوز وفاعلية NAG لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	99
الشكل 25	مخطط منحنى ROC لفاعلية NAG لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين لديهم وظيفة كلوية سئية.	100
الشكل 26	النسبة المئوية لنتائج تحديد الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية بناءً على القيمة 11.973 وحدة دولية / لتر لفاعلية NAG وفقاً للمجموعة المدروسة.	103
الشكل 27	المتوسط الحسابي لأعمار المرضى لدى مجموعة الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لحالة الوظيفة الكلوية	107
الشكل 28	المتوسط الحسابي لمدة نقل الدم لدى مجموعة الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لحالة الوظيفة الكلوية	108
الشكل 29	المتوسط الحسابي لتركيز فيريتين المصل لدى مجموعة الثلاسيمية بيتا الكبرى وفقاً لحالة الوظيفة الكلوية	109

List of abbreviations قائمة الاختصارات

Ala	Alanine (ثمالة الألانين)
ALT	Alanine aminotransferase
Arg	Arginine(ثمالة الأرجينين)
Asn	Asparagine (ثمالة الأسباراجين)
Asp	Aspartic acid (ثمالة حمض الأسبارتيك)
AST	Aspartic aminotransferase
ATG	رامزة البدء
ATP	Adenosine triphosphate (أدينوزين ثلاثي الفوسفات)
cDNA	نسائل الدنا التميمة
DFO	deferoxamine ديفيروكسامين
DFP	deferiprone ديفيربيرون
ER	endoplasmic reticulum (الشبكة الهيولة الباطنة)
FT3	Free Triiodothyronine Tests
FT4	Free Thyroxine Tests
GalNAc	N - أسيتيل - بيتا - غالاكتوزأمين
GFR	glomerular filtration rate (سرعة الترشيح الكبيبي)
GlcNac	N -أسيتيل - بيتا - غلوكوزأمين
Gln	Glutamine (ثمالة الغلوتامين)
Glu	Glutamic acid (ثمالة حمض الغلوتاميك)
Gly	Glycine(ثمالة الغليسين)
Hex	هكسوأمينيداز
HRP	بيروكسيداز فجل الخيل
IGF-1	Insulin –like growth factor-1
IGFBP-3	IGF-binding protein-3
IMN	Idiopathic membranous nephropathy

kb	واحدة الوزن (Kilobase)
KDa	واحدة الوزن (Kilodalton)
L	واحدة الحجم اللتر
Leu	Leucine (ثمالة اللوسين)
Lys	Lysine (ثمالة الليزين)
MCP	3-كريزول سلفون فتالئين
MCP-NAG	3- كريزول سلفون فتالئين - N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيد
Met	Methionine (ثمالة الميثيونين)
MUG	4-methylumbelliferone
MUGS	4-methylumbelliferone-N-acetylglucosamine-6-sulfate
NAGase	N-Acetyl-D-Glucosaminidase
NANA	N-acetyl-neuraminic acid
NTBI	non transferrin bound iron (حديد غير مرتبط مع الترانسفيرين)
OH	جذور الهيدروكسيل
pH	درجة الباهاء
PTH	Para Thyroid Hormone (هرمون جارات الدرق)
ROS	reactive oxygen species (أنواع الأكسجين الفعال)
Ser	Serine (ثمالة السيرين)
t	مدة الحضن مقدرة بالدقيقة
Thr	Threonine (ثمالة الثريونين)
TSH	Thyroid stimulating hormone (الهرمون المنبه للدرق)
U	وحدة دولية
v	حجم عينة البول مقدراً بـ مل
V	الحجم النهائي الموجود في المحفد مقدراً بـ مل
غ	واحدة الوزن الغرام
كغ	واحدة الوزن الكيلو غرام

مغ	واحدة الوزن الميلي غرام
مل	واحدة الحجم الميلي لتر

List of terminology قائمة المصطلحات

absent	غياب
absorption	امتصاص
accumulate	تراكم
acquired	مكتسبة
activator	مفعل
activity	نشاط
acute	حاد
aggregates	كداسات
agranulocytosis	ندرة محببات
amenorrhea	انقطاع الحيض
anemia	فقر الدم
anomer	مصاوغ كربونيلي
anorexia	قهم
anterior pituitary	النخامية الأمامية
anuria	الزرام
apoptosis	استماتة
arrhythmia	اضطراب نظم
arthropathy	اعتلال مفصلي
artificial	اصطناعي
asymptomatic	عديم أعراض
atrophy	ضمور
attachment	ارتكازي
bacteremia	تجرثم دم
blood transfusion	نقل دم
bonds	روابط

bone marrow	نقي العظم
breakdown	انهيار
brush border	حافة فرشاتية
cardiac	قلبي
catalytic	تحفيز
chromatography	استشراب
cirrhosis	تشمع
clinical	سريرية
clustering	تعنقد
codon	رامزة
cofactor	عامل تميم
complement	متممة
complications	مضاعفات
cortical collecting tubule	الأنبوب القشري الجامع
co-translational targeting	عمليات مرافقة للترجمة
deficiencies	أعواز
degradation	تدرك
delayed	تأخر
deletions	خبنات
deliver	إيتاء
depletion	نفاذ
deposition	ترسب
detergent	منظف
detoxification	إزالة سمية
diabetes	سكري
dialysis	ديال

diarrhea	اسهال
diastolic	انبساطي
dipstick	غميسة
donor	معط
dysfunction	خلل وظيفي
effects	تأثيرات
efflux	تدفق
electrofocusing	التبئير الكهربائي
electrophoresis	الرحلان الكهربي
electrostatic	سكون كهربائي
endocrine	غدي
endoplasmic reticulum	الشبكة الهيولة الباطنة
endothelial	بطانية
enlarged	متضخم
epithelial	ظهارية
excess	زائد
exocytosis	الإيماس
expansion	توسع
extramedullary hematopoiesis	تكون الدم خارج النقي
fertility	خصوبة
fibrosis	تليف
fold	طي
gallstones	حصاة صفراوية
gene	جين
genotype	نمط جيني
glomerular filtration rate	سرعة الترشيح الكبيبي

glomerular hyperfiltration	فرط الترشيح الكبيبي
glomerular hyperperfusion	فرط التروية الكبيبية
glomerulosclerosis	تصلب كبيبات
glycolipid	شحوم سكرية
glycoproteins	بروتينات سكرية
glycosuria	بيلة سكرية
graft	طعم
growth	نمو
haematuria	بيلة دموية
heart failure	فشل قلبي
heat	حرارة
hemichromes	ملونات نصفية
hemoglobin	هيموغلوبين
hemolytic	انحلالي
hepatomegaly	ضخامة الكبد
hepatosplenomegaly	ضخامة كبد وطحال
heterodimer	مثنوي متغاير
heterozygous	متغاير الزيجوت
homodimer	مثنوي متجانس
homozygous	متماثل الزيجوت
hydrolytic enzyme	إنزيم محلمه
hydrophobic	كاره للماء
hydropic fetus	استسقاء جنيني
hypercalciuria	فرط كالسيوم البول
hypersplenism	فرط نشاط الطحال
hypertension	ارتفاع ضغط

hyperuricosuria	فرط حمض يوريك البول
hypoadrenalism	قصور كظر
hypocalcemia	انخفاض الكالسيوم
hypochromia	نقص الانصباغ
hypogonadism	قصور غدد تناسلية
hypoparathyroidism	قصور دريقات
hypoperfusion	نقص تروية
hypoxia	نقص تأكسج
imbalance	فقد توازن
in vitro	في المختبر
in vivo	في الأحياء
inactivate	تعطل
inclusion bodies	أجسام اشتمالية
ineffective erythropoiesis	تكون الكريات الحمر اللافعال
infections	الأخماج
injury	إصابة
insufficiency	قصور
intermedia	وسطى
interstitial	خلالي
intestinal	معوي
intolerance	عدم تحمل
intracellular	داخل خلوي
intramedullary	داخل التقي
iron chelating	خلب الحديد
iron overload	التحميل المفرط بالحديد
irritability	هيوجية

isoelectric points	نقاط تساوي كهربية
leg	ساق
leukopenia	قلة كريات بيض
linkage	ارتباط
lipid peroxidation	الأكسدة الفائقة للشحوم
lipids	شحوم
liposome	جسيم شحمي
loop	عروية
lumen	لمعة
lysosomal	الجسيم الحال
macrophages	البلاعم
major	كبرى
marker	واصم
mature form	الشكل الناضج
medullary thick ascending limb	الطرف البي الصاعد الثخين
membrane	غشائية
menstrual irregularities	عدم انتظام حيضي
mesangium	مسراق الكبيبة
microcytosis	صغر الكريات الحمراء
mild	خفيف
minor	صغرى
mitochondrial stress	الكرب المتقدري
monomer	موحود
morbidity	إمراضية
mortality	وفيات
musculature	كتلة عضلية

mutations	طفرات
myocarditis	التهاب عضلة قلبية
nascent	وليد
necrosis	نخر
nephritic syndrome	المتلازمة الكلائية
nephritis	التهاب كلية
nephropathy	اعتلال كلوي
nephrotoxicity	سمية كلوية
neutropenia	قلة عدلات
nonheme	لاهيمي
nucleophilic	محب للنواة
obstruction	انسداد
oliguria	قلة بول
osteopenia	قلة تعظم
osteoporosis	تخلخل عظام
overt hypothyroidism	قصور درقية صريح
oxidation	أكسدة
oxidative damage	ضرر تأكسدي
parenchymal tissues	النسج المتنية
parietal	جدارية
pars recta	الجزء المستقيم
partial	جزئية
pericardial effusion	انصباب تأموري
pericarditis	التهاب تأمور
peripheral	المحيطية
permeability	نفاذية

phosphorylation	فسفتة
pinocytotic	احتساء
point	نقطية
poor	ضعف
post-translational modifications	تعديلات تالية للترجمة
precipitate	ترسب
precursors	طلائع
preeclampsia	مقدمة الارتعاج
prerenal	قبل كلوية
primary	أولي
progeny	نسل
progressive	مترقي
promoter	المعزاز
propolypeptides	طليعة عديدة ببتيد
proteinuria	بيلة بروتينية
proteolysis	تحلل بروتيني
proximal convoluted tubule	نبيب ملفف داني
puberty	بلوغ
pulmonary	رئوي
pyelonephritis	التهاب الحويضة والكلية
reactive oxygen species	أنواع أكسجين فعال
reduced	نقص
reducing	مختزل
rejection	رفض
residue	ثمالة
resistance	المقاومة

retardation	تأخر
retinopathy	اعتلال شبكية
rheumatoid Arthritis	التهاب مفاصل روماتويدي
saturates	يشبع
scarring	تندب
scavenging	كاسح
secondary	ثانوي
secretory	إفرازي
seizures	نوبات
sequences	متواليات
severe	وخيم
sickle cell	خلية منجلية
signal	إشارة
site	موقع
skeletal changes	تبدلات هيكلية
Splenectomy	استئصال طحال
splenomegaly	تضخم طحال
stability	ثباتية
stones	حصيات
storage	تخزين
structural	بنيوية
Subclinical primary hypothyroidism	قصور درقية أولي تحت سريري
substrate	ركازة
synthetic	تخليقي
systemic lupus erythematous	الذئبة الحمامية الجهازية
systolic	انقباضي

target cells	كريات هدفية
terminal sugar	نهاية سكرية
tetany	تكزز
tetramer	مكثور رباعي
thalassemia Syndromes	المتلازمات الثلاسيمية
therapeutic	علاجي
thrombocytopenia	قلة صفيحات
thrombosis	خثار
trait	الخلة
transcription	النسخ
translation	الترجمة
transplantation	زرع
trauma	رضح
tubular	نبيبي
turnover	تقلب
ulcers	تقرح
undernutrition	نقص تغذية
vascular	الوعائية
vesicoureteric reflux	الجزر المثاني الحالبي
visceral	حشوية
volume	الحجم
vomiting	اقياء

القسم النظري

1 - المتلازمات الثلاسيمية Thalassemia Syndromes

1 -1- مقدمة

تعرف المتلازمات الثلاسيمية بأنها مجموعة من اضطرابات الهيموغلوبين الوراثية التي تنجم عن خلل يطرأ على سلسلة واحدة أو أكثر من سلاسل الغلوبين متعددة الببتيد، يسبب هذا الخلل غياب absent أو نقص reduced إنتاج السلسلة المتأثرة مقابل زيادة إنتاج سلسلة الغلوبين الأخرى. وكنتيجة لذلك تختص الكريات الحمر بمحتوى هيموغلوبين ناقص (نقص الانصباغ Hypochromia) وحجم صغير (صغر الكريات الحمراء microcytosis)[1].

يتألف الهيموغلوبين السوي من مكثور رباعي tetramer لزوجين من سلاسل الغلوبين غير المتشابهة، سلسلتي غلوبين α وسلسلتي غلوبين غير α (γ، δ، β). ونجد في كل سلسلة من سلاسل الهيموغلوبين جزء هيمي يرتبط بها ويرتبط به الأكسجين.

ترمز سلاسل الغلوبين ألفا بجينين مرتبطين بشكل وثيق (α 1 و α 2) على الصبغي 16 بينما ترمز سلاسل الغلوبين غير ألفا (بيتا، غاما، دلتا) بعنقود جينات على الصبغي 11 (الشكل 1). تنتج ازدواجية سلاسل الغلوبين المتعددة هذه ثلاثة أنماط من الهيموغلوبين :

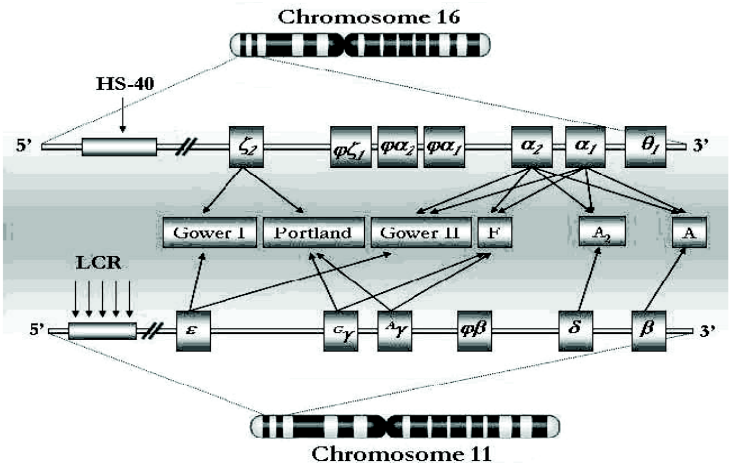
-الهيموغلوبين A: هوالهيموغلوبين الرئيسي لدى الاشخاص البالغين، وتقدر نسبته بنحو97-98 % ويتألف من سلسلتي ألفا وسلسلتي بيتا **(α2β2)**.

-الهيموغلوبين A2: هو مكون ثانوي للهيموغلوبين لدى الاشخاص البالغين. وتقدر نسبته بنحو 2-3.3% من الهيموغلوبين الكلي، ويتألف من سلسلتي ألفا وسلسلتي دلتا **(α2δ2)** .

-الهيموغلوبين F: أو الهيموغلوبين الجنيني وهوالهيموغلوبين الرئيسي لدى الولدان وتتراوح نسبته لديهم بين 70-90 % ، إلا انه يأخذ بالتناقص تدريجياً مع نمو الطفل، حتى تصل نسبته إلى 1% أو أقل عند بلوغ الطفل الشهر السادس من عمره، فتصبح نسبته لديه كنسبته لدى البالغ . وهو يتألف من سلسلتي ألفا وسلسلتي غاما **(α2γ2)** [1].

إن السمة المميزة لكل أنواع الثلاسيمية هو فقد توازن imbalance إنتاج سلاسل الغلوبين، حيث يؤدي التخليق السوي والمستمر لسلاسل الغلوبين غير المتأثرة إلى ترسبها ضمن طلائع الكرية

الحمراء، الأمر الذي يقود إلى تخرب هذه الخلايا ضمن النقي وبالتالي تتقلص فترة حياة نسلها في الدم المحيطي.



الشكل 1: جينات الغلوبين ألفا وبيتا.

(عن : Weatherall D.J. and Clegg J.B. The Thalassemia Syndromes: 4th Ed, Oxfored (1)(Blackwell Science, 2001

تجري وراثة الثلاسيمية بطريقة مندلية صاغرة ويسمى شكل المرض الوخيم severe متماثل الزيجوت homozygous بالثلاسيمية الكبرى، أما الحالة التي يورث فيها الخلل في جين واحدة للغلوبين فتسمى بالخلة trait. يبدى هذا المرض تنوعاً شديدياً على المستوى السريري والعديد من الحالات تقع بين الحالتين المذكورتين وبالتالي تصنف على أنها ثلاسيمية وسطى[2].

تصنف المتلازمات الثلاسيمية تبعاً لنمط سلسلة الغلوبين التي تكون غائبة أو موجودة بكميات منقوصة، والفئتان الرئيسيتان الأكثر شيوعاً هما الثلاسيمية ألفا والثلاسيمية بيتا.

2-1 -الثلاسيمية ألفا α- Thalassemia

تنجم عن خلل في إنتاج سلسلة الغلوبين ألفا، ومقابل هذا الخلل يجري إنتاج كميات زائدة من السلاسلγ، خلال الحياة الجنينية، لتشكل جزيئات γ_4 والتي تعطي الهيموغلوبين بارتز (HbBart's)، في حين أنه لدى البالغ تتشكل جزيئات β_4 من السلاسل بيتا الزائدة وتعطي الهيموغلوبين H (HbH) [3].

يرتبط الهيموغلوبين بارتز والهيموغلوبين H بالأكسجين بشكل وثيق ولا يتخليان عنه في الشروط الفيزيولوجية الطبيعية، كما أنهما غير ثابتين، مما يؤدي إلى قصر فترة حياة الكريات الحمر وبالتالي حدوث فقر الدم anemia ويترافق ذلك مع تناقص تزويد النسج بالأكسجين بسبب ألفة الهيموغلوبينين المذكورين أعلاه العالية للأكسجين[3].

يرث الإنسان الطبيعي جينين للسلسلة α من كل والد وبالتالي يكون النمط الجيني genotype αα/αα. تنجم معظم حالات الثلاسيمية α عن خبنات deletions واحد أو كلا جينات الغلوبين α الموجودة على الصبغي 16 المتأثر.

درست الثلاسيمية α بصورة مكثفة لدى السكان الآسيويين، وجرى التعرف على صنفان رئيسيان لمتلازمة الثلاسيمية α :

الصنف الأول α^0 thalassemia : حيث تحذف كل جينات السلسلة α جزئياً أو كلياً. تكتب حالة متماثلة الزيجوت متماثلة الألائل homozygous state --/-- أما الحالة متغاير الزيجوت heterozygous stateفتكتب αα/ --.

الصنف الثاني α^+thalassemia: حيث يحذف جين واحدة فقط وتكتب الحالات متماثلة الزيجوت متماثلة الألائل ومتغايرة الزيجوت، على الترتيب، كما يلي αα/α- و α-/α-.

تؤدي حالة متماثلة الزيجوت متماثلة الألائل في الثلاسيمية α^0، التي تفقد فيها جينات الغلوبين α الأربعة ، إلى عيب مميت وهي حالة استسقاء جنيني hydropic fetus، حيث يموت الجنين في رحم والدته أو فور ولادته مباشرة [3].

إن الأفراد الذين فقدوا ثلاث جينات للسلسلة α من أصل أربع (- α /- -) يعانون من مرض الهيموغلوبين H والذي يتميز بفقر دم متوسط وتضخم في الطحال enlarged spleen، حيث ينتج المرضى المصابون به كميات زائدة من سلاسل الغلوبين β، ويملكون كلاً من مظاهر الثلاسيمية وفقر الدم الانحلالي hemolytic anemia [4].

أما الأشخاص الذين فقدوا جين واحدة أو اثنتين من جينات السلسلة α فتغيب عنهم المعاناة (فليست لديهم أية أعراض) [3].

3-1- الثلاسيمية بيتا β- Thalassemia

تنجم الثلاسيمية بيتا عن خلل في إنتاج سلسلة الغلوبين بيتا، والسبب طفرات نقطية point mutations في مناطق هامة وظيفياً من جين الغلوبين بيتا. ويمكن لبعض هذه الطفرات أن تسبب

غياباً في إنتاج السلسلة بيتا، مما يؤدي إلى الثلاسيمية β^0 (β^0 thalassemia) وفي حين أن طفرات أخرى تسبب تناقصاً في إنتاج السلاسل بيتا، مما يسبب الثلاسيميةβ^+ (β^+thalassemi).
إن عدم التوازن بين سلاسل ألفا وسلاسل بيتا يسبب نقص إنتاج الهيموغلوبين A وللتعويض يزداد إنتاج السلسلتين دلتا وغاما وبالتالي يزداد الهيموغلوبين A 2 والهيموغلوبين الجنيني (Hb F)[5].
جرى التعرف على أكثر من 200 طفرة مختلفة تسبب الثلاسيمية بيتا ويمكن لهذه الطفرات أن تؤثر على عمل الجين في أي مستوى بين النسخ transcription ، معالجة المنتسخ الأولي للرنا المرسال primary messenger ribonucleic acid transcript،الترجمة translation أو ثباتية المنتج المورثي بعد الترجمة post-translational stability of the gene product . يمكن للثلاسيمية بيتا، في حالات نادرة، كما في الثلاسيمية ألفا أن تحدث بسبب حذف كامل أو جزئي لجين الغلوبين بيتا [6].

1-3-1-الانتشار والتوزع الجغرافي

تظهرالثلاسيمية خاصة وبمعدلات مرتفعة في شريط ضيق يمتد من منطقة البحر الأبيض المتوسط عبر الشرق الأوسط وشبه القارة الهندية باتجاه جنوب شرق آسيا، حيث تتوزع بشكل خط عمودي يمتد من الصين عبر شبه الجزيرة الماليزية ليصل إلى أندونيسيا.
لكل مجموعة سكانية أنواعها المميزة من الثلاسيمية بيتا، مما يشير إلى أن الثلاسيمية تحدث بسبب طفرة وأن تكرار هذه الجين يزداد بسبب آليات انتقائية محلية [7] .

1-3-2- التصنيف Classification

تصنف الثلاسيمية بيتا إلى الثلاسيمية الصغرى thalassemia minor، الثلاسيمية الوسطى thalassemia intermedia والثلاسيمية الكبرى thalassemia major وذلك اعتماداً على وخامة فقر الدم [8].

1-3-2-1- الثلاسيمية الصغرى: وهي حالة ثلاسيمية بيتا متغايرة الزيجوت heterozygous حيث يرث الشخص صفة المرض من أحد الأبوين فقط، وفي هذه الحالة يسمى الشخص حاملاً للمرض أو مصاباً بخلة الثلاسيمية بيتا.
تكون نسبة كل من الهيموغلوبين F والهيموغلوبين A2 مرتفعة ارتفاعاً معتدلاً ونادراً ما تتجاوز إحداهما 10% ، بينما تكون نسبة الهيموغلوبين A عالية وتشكل النسبة الباقية من الهيموغلوبين أي نحو 90% [9].

قد لا تشخص الثلاسيمية الصغرى إلا في مرحلة البلوغ أو أثناء اجراء الفحوص الدموية الروتينية وغالباً ما يكون أول تشخيص لها أثناء الحمل. لذلك يعيش المصاب بالثلاسيمية الصغرى حياة طبيعية لا تبدو عليه أعراض سريرية clinical asymptomatic، يعاني فقط من فقر دم خفيف mild anemia وقد يكون الطحال مجسوساً [1].

يبدي فحص لطاخة الدم تفاوتاً في حجم الكريات الحمراء ، وكثرة في الكريات صغيرة الحجم microcytosis ، وتظهر كذلك كريات حمراء ناقصة الصباغ Hypochromia وكريات هدفية target cells . وقد نجد أحياناً كريات حمراء سوية في شكلها ومناسبها لدى بعض مرضى الثلاسيمية الصغرى[8،9].

1-3-2-2-الثلاسيمية الوسطى : يعاني مرضى الثلاسيمية الوسطى من فقر دم متوسط الشدة، حيث تكون مستويات الهيموغلوبين حوالي 7 غ /دل، لا يتطلب نقل دم منتظم، لكن مع التقدم في العمر أو خلال فترة الحمل يحتاج مرضى الثلاسيمية الوسطى إلى نقل دم منتظم مع إشراف طبي.

تظهر الأعراض السريرية خلال المدة بين السنة الثانية والسنة السادسة من عمر المريض وقد تتأخر إلى سن البلوغ[1]. وتكون مستويات الحديد مرتفعة وتظهر اللطاخة الدموية اضطرابات شكلية في الكريات الحمراء كنقص الصباغ وصغر الكريات[8].

يتعرض مريض الثلاسيمية الوسطى إلى بعض المشاكل الصحية كضعف البنية وتخلخل العظام osteoporosis، ضخامة الكبد والطحال hepatosplenomegaly، حصاة صفراوية gallstones، تقرح الساق leg ulcers، اليرقان، تأهب الإصابة بالخثار thrombosis[1].

1-3-2-3- الثلاسيمية الكبرى: هي حالة ثلاسيمية بيتا متماثلة الزيجوت homozygous وتعرف باسم فقر دم كولي. وترتفع فيها نسبة الهيموغلوبين الجنيني F فتصل إلى 70-90% دون أن ترتفع معها نسبة الهيموغلوبين A2 وتكون نسبة الهيموغلوبين الكهلي منخفضة وتتراوح بين 10-30 % [9].

يتطور لدى مرضى الثلاسيمية الكبرى فقر دم وخيم، وتظهر اللطاخة الدموية لديهم اضطرابات شكلية شديدة في الكريات الحمراء، كنقص الصباغ وصغر الكريات، كما تشاهد كريات هدفية مشوهة ومجزأة مع اختلاف في الشكل وأعداد كبيرة من الكريات الحمراء المنواة التي تتضح بشكل خاص بعد استئصال الطحال[8] .

تبدأ أعراض المرض بالظهور خلال الأشهر القليلة من الولادة وقد تتاخر من ستة أشهر حتى السنة.

وتتضمن الأعراض الأولية التي يلاحظها أهل الطفل المصاب : شحوب pale، مشاكل فى الإطعام Feeding problems، الاسهال، هيوجية irritability، هجمات ناكسة من الحمى، تضخم مترقي في البطن .

وفي حالة عدم التشخيص السليم أوعدم المعالجة واستمرار فقر الدم، تظهر أعراض أخرى تتضمن : تأخر النمو growth retardation فيبدو الطفل صغير الحجم وأقل سناً من أقرانه الأصحاء، الشحوب، اليرقان، تقرح الساق، ضعف الكتلة العضلية poor musculature، تضخم الكبد والطحال، تكون الدم خارج النقي extramedullary hematopoiesis وتبدلات هيكلية skeletal changes ناتجة عن توسع expansion نقي العظم bone marrow وخصوصاً عظام الوجه والوجنتين والعظام الطويلة للساق [1].

1-3-3 -الفيزيولوجيا المرضية Pathophysiology

يستمرفي الثلاسيمية بيتا إنتاج كميات سوية من سلسلة الغلوبين ألفا، بينما ينقص أو يغيب اصطناع سلسلة الغلوبين بيتا المتأثرة. وينجم عن عدم التوازن هذا تراكم سلاسل ألفا الحرة غير القابلة للذوبان ضمن الكريات الحمراء الثلاسيمية. وبما أن هذه السلاسل لن تجد سلاسل الغلوبين المتممة لها، لترتبط، معها فإنها تشكل كداسات aggregates غير ثابتة والتي تصبح متاكسدة وتترسب precipitate ضمن الكريات الحمراء. وتؤدي هذه الترسبات إلى ضرر تاكسدي oxidative damage لغشاء الكرية، الأمر الذي يقود إلى تخرب هذه الخلايا ضمن النقي وبالتالي تتقلص فترة حياة نسلها progeny في الدم المحيطي.

تدعى كداسات السلسلة ألفا بالأجسام الاشتمالية inclusion bodies، تحدث عملية تشكل الأجسام الاشتمالية بكثرة في طلائع الكريات الحمراء erythroid precursors المنواة والموجودة في نقي العظم، وهي المسؤولة عن تكون الكريات الحمراء اللافعال ineffective erythropoiesis التي تختص به الثلاسيمية بيتا. وتسبب هذه الأجسام الاشتمالية انحلالاً داخل النقي intramedullary [1].

تبدي الكريات الحمراء الثلاسيمية شذوذات خلوية واضحة، حيث يحتوي غشاؤها على كميات كبيرة من سلاسل ألفا، التي تسبب عدم استقرار في الغشاء. كذلك يزداد إنتاج أنواع الأكسجين الفعالة (ROS) بسبب ترسب deposition الكميات الزائدة من سلاسل الغلوبين ألفا التي تحتوي على الحديد الحر، الحديد اللاهيمي nonheme iron والملونات النصفية hemichromes. تسبب

أنواع الأكسجين الفعالة أذية تأكسدية، وبالتالي تبدلات نوعية في الشحوم الغشائية membrane lipids، والبروتينات الغشائية membrane proteins مثل البروتين band 3، حيث تؤدي إلى تعنقد clustering هذا البروتين، مما يشكل مستضداً جديداً neoantigen يرتبط بالـ IgG وبالمتممة complement[10،11]. تقوم البلاعم macrophages بمهاجمة الخلايا المصابة، نتيجة تواجد المستضد الجديد على غشاء الكريات الحمراء وغياب جزيئات thiol (SH) عن سلاسل ألفا الزائدة المرتبطة بالغشاء[12].

تبين أن كميات الحديد الحر تتزايد بشكل كبير خاصة في كريات الدم الحمراء لدى الأشخاص الذين خضعوا لاستئصال الطحال[13]. مما يعني أن الطحال يقوم بتخليص الجسم من الكريات الحمراء ذات الحمولة الحديدية الكبيرة وبالتالي من الكريات الأكثر تخرباً [11].

1-3-4- مضاعفات الثلاسيمية بيتا الكبرى-β Complication of thalassemia major

ينجم عن الإصابة بالثلاسيمية بيتا الكبرى المضاعفات التالية:

1-3-4-1- التحميل المفرط بالحديد

يحدث التحميل المفرط بالحديد Iron overload لدى مرضى الثلاسيمية المعالجين وغير المعالجين بنقل الدم، وذلك في غياب المعالجة الخالبة للحديد، حيث يزداد الامتصاص المعوي intestinal absorption للحديد لدى المرضى جميعهم مع ارتفاع تكون كريات الحمراء اللافعال. لذلك يكون المرضى عرضة لتحميل مفرط بالحديد، حتى بدون نقل الدم. وإن المعالجة المتكررة بنقل الدم يمكن أن تضاعف من تراكم الحديد وتزيد الوضع سوءاً [1] .

يزداد حديد الجسم 5 غ كل عام إعتماداً على وخامة فقر الدم وتكون الكريات الحمراء اللا فعال[14].

يبدأ توضع الحديد في النسج المتنية parenchymal tissues لدى هؤلاء المرضى خلال عام من بدء نقل الدم المنتظم، ويمكن أن يتسبب في حدوث سمية يُعتد بها في الخلايا ضمن الشبكة الهيولية الباطنة [15] .

إن ترسبات الحديد لدى مرضى الثلاسيمية تتجاوز قدرة الفريتين على تخزين الحديد storage وإزالة سميته detoxification، كما أن ارتفاع مستويات الحديد يشبع saturates الترانسفيرين تماماً وبالتالي فإن الحديد الحر free iron (غير مرتبط بالترانسفيرين non transferrin bound iron - NTBI) يبدأ بالتراكم accumulate في النسج، يحدث هذا التراكم في أعضاء

حيوية مثل الكبد، القلب ، الغدد الصماء، مما يؤثر تدريجياً على أدائها الوظيفي.

يحفز الحديد الحر تشكل مركبات مؤذية جداً مثل جذور الهيدروكسيل (-OH) وهي جذور عالية الفعالية تهاجم المواد الشحمية والبروتينات والدنا[14].

1-3-4-2- التبدلات الشعاعية للعظام

أورد Cooley في وصفه الأصلي للثلاسيمية الكبرى وجود تبدلات شعاعية للعظام Radiologic change of bones تظهر بشكل تشوهات عظمية مميزة لهذا المرض، حيث تتضخم عظام الوجنتين فيأخذ وجه المريض سحنة المنغوليين، وتتسع المسافة بين الصفائح العظمية في الجمجمة، مما يؤدي إلى تغير شكل الوجه والأنف. وتبدي نهايات الأشعار في الرأس مظهر الفرشاة، كما تتسع كهوف نسيج النقي ومسافاته في العظام الطويلة بسبب نشاط الجملة المولدة للكريات الحمراء فتبدو عريضة. ويظهر قشر السمحاق رقيقاً قليل الكثافة ويحدث تباعد الأسنان نتيجة اتساع عظام الفكين (1 ،15).

ينتشر انخفاض الكثافة العظمية لدى هؤلاء المرضى بشكل كبير. وتتظاهر الكثافة العظمية المنخفضة بتخلخل العظام osteoporosis أو بقلة التعظم osteopenia وهو الأكثر شيوعاً وتتراوح نسبة انتشاره لدى المرضى بين 40-60% [16،17].

1-3-4-3- فرط نشاط الطحال

يقوم الطحال بتصنيع خلايا الدم الحمراء بسبب فقر الدم المزمن وعدم تمكن نقي العظم من تعويض النقص، مما يسبب تضخمه. كذلك يقوم بحجز الكريات الحمراء المشوهة وإزالتها، مما يزيد هذا التضخم تدريجياً بحيث يمتد إلى الأسفل وقد يصل إلى الحفرة الحرقفية اليسرى ويضغط على الأعضاء المجاورة مسبباً إعاقة حركية [1].

يمثل فرط نشاط الطحال hypersplenism الشديد مصدر أسى لدى هؤلاء الأطفال، حيث يؤدي إلى قلة الصفيحات thrombocytopenia وإلى نزوف غير طبيعية. ومن جهة أخرى فإن المرضى الخاضعين لاستئصال الطحال العلاجي therapeutic splenectom معرضين بشكل كبير لاختطار الإصابة بتجرثم الدم bacteremia وبالانتانات التالية لاستئصال الطحال post-splenectomy sepsis [16،17].

1-3-4-4 - المضاعفات القلبية

إن المضاعفات القلبية Cardiac complications، بشكل خاص قصور القلب الأيسر هي، المسؤولة عن أكثر من نصف الوفيات لدى مرضى الثلاسيمية [18].

يتظاهر المرض القلبي بفشل قلبي heart failure، ارتفاع الضغط الرئوي pulmonary hypertension، اضطراب النظم arrhythmia، خلل وظيفي انبساطي أو انقباضي systolic/diastolic dysfunction انصباب تأموري pericardial effusion، التهاب عضلة قلبية myocarditis أو التهاب التأمور pericarditis. ويعد التحميل المفرط بالحديد السبب الرئيسي، علماً أن العوامل الوراثية والمناعية ،الأخماج و فقر الدم المزمن لها دور مهم أيضاً [19،20].

2-3-4-5 - المضاعفات الغدية

ترتفع نسب المضاعفات الغدية Endocrine Complications لدى الأطفال، المراهقين، البالغين من صغار السن المصابين بالثلاسيمية الكبرى. ومن أكثر هذه المضاعفات شيوعاً قصور الغدد التناسلية Hypogonadism، بسبب نقص موجهة الغدد التناسلية والذي يظهر لدى 75% من المرضى[21].

يبدو أن النخامية الأمامية anterior pituitary أكثر حساسية للتحميل المفرط بالحديد الذي يؤدي إلى اضطراب الإفراز الهرموني، مما يسبب الخلل الوظيفي في الغدد التناسلية gonadal dysfunction[22]. وبالتالي يعاني هؤلاء المرضى من نقص في مختزنات موجهة الغدد التناسلية gonadotrophin ويتجلى ذلك بتأخر delayed أوغياب البلوغ absent puberty، انقطاع الحيض amenorrhea الأولي primary أو الثانوي secondary، عدم انتظام حيضي menstrual irregularities ولاحقاً مشاكل في الخصوبة fertility [16،17].

كذلك يُلاحظ تأخر سرعة النمو لدى مرضى الثلاسيمية، فخلال مرحلة الطفولة يتأثر النمو بفقر الدم وبمشاكل الغدد الصماء المتعددة. وتكون مرحلة البلوغ هي مرحلة التراجع الأعظمي للنمو، حيث تتراجع أو تغيب فيها قفزة النمو لدى هؤلاء المرضى، مما يؤدي إلى قصر في قامة البالغين[23] .

ومن المضاعفات الأخرى على مستوى الغدد الصماء عدم تحمل الغلوكوز glucose intolerance لدى المراهقين وتطور الداء السكري لاحقاً، ويعود ذلك إلى توضع الحديد في البنكرياس[24]. حيث يلاحظ الداء السكري والمقاومة للأنسولين بنسبة بين 6% و 10% لدى

مرضى الثلاسيمية الخاضعين لنقل الدم منتظم ولديهم تحميل مفرط بالحديد. ومن النادر حدوث حماض كيتوني سكري diabetic Ketoacidosis لدى هؤلاء المرضى[1].

تبين أن نسبة الاعتلالات الدرقية لدى مرضى الثلاسيمية تتراوح بين 13-60 % ولكن شدة الأعراض تتباين لدى هؤلاء المرضى، حيث ذكرت الدراسات تواتراً مرتفعاً لقصور درقية أولي تحت سريري subclinical primary hypothyroidism (ارتفاع قيم هرمون TSH بينما تبقى قيم FT4– FT3 طبيعية)، بينما كانت نسبة انتشار قصور الدرقية الصريح (انخفاض قيم FT4و/أو FT3 مع ارتفاع قيم TSH) overt hypothyroidism منخفضة نسبياً [16، 17].

لم تكن هنالك علاقة بين مستويات الفريتين والوظيفة الدرقية، على الرغم من أن الوظيفة الدرقية غير الطبيعية تكون عكوسة في حالات خلب الحديد المكثفة [25] .

أما نسبة قصور الدريقات Hypoparathyroidism، والذي يجري تقييمه من خلال مستويات الكالسيوم والفسفور و PTH، فتتراوح بين 4-12% مع انتشار أكبر لدى الذكور، وهو يلاحظ خلال العقد الثاني من العمر[16]. حيث تنخفض قيم PTH والكالسيوم الكلي والشاردي بشكل واضح، في حين ترتفع قيم الفسفور لدى مرضى الثلاسيمية المصابين بقصور الدريقات [17].

وتمت الإشارة إلى حالات نادرة لقصور الكظر hypoadrenalism لدى بعض مرضى الثلاسيمية الكبرى [26].

1-3-4-6- المضاعفات الكبدية

يحدث لدى العديد من مرضى الثلاسيمية مع مرور الوقت مضاعفات كبدية Liver complications تتظاهر بضخامة كبدية Hepatomegaly، نقص تراكيز الألبومين، ازدياد فعالية AST و ALT ، الإصابة بالتهاب الكبد الفيروسي B و C .

يسبب الحديد الوارد مع نقل الدم والمتراكم تأذياً خلوياً مع ترقي إلى التليف fibrosis والتشمع cirrhosis من خلال تحريض الاكسدة الفائقة للشحوم والمتواسطة بالجذور الحرة والخلل الوظيفي المتقدري mitochondrial dysfunction . كذلك يلعب التهاب الكبد الفيروسي دوراً في تليف وتشمع الكبد[27].

1-3-4-7- المضاعفات الكلوية

أدى نقل الدم الآمن والمنتظم والمعالجة بخالبات الحديد إلى إطالة مدة الحياة وتحسين نوعيتها لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، مما سمح بكشف العديد من إمراضيات هذا الداء ومعالجتها.

وعلى الرغم من الإشارة إلى العديد من الاعتلالات الوظيفية لدى مرضى الثلاسيمية، لكن تبقى المعلومات قليلة حول تأثير المرض وأسلوب معالجته على الكلية. إلا أن هنالك إشارة إلى وجود عدة مضاعفات كلوية renal complications لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى والتي تتضمن خللاً وظيفياً نبيبياً واعتلالات معدل الترشيح الكبيبي [28].

1-3-4-7-1- سوء الوظيفة النبيبية Tubular dysfunction

ازداد معدل وصف حالات سوء الوظيفة النبيبية الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية الكبرى، إلا أن درجة الأذية الكلوية لدى هؤلاء المرضى تبقى غير محددة تماماً.

تتظاهر الأذية في الخلايا النبيبية بعدة أنماط تتراوح من البيلة البروتينية البسيطة، التي تكشفها شرائط تحليل البول وشذوذات كهرلية مائية لا عرضية asymptomatic hydro-electrolytic abnormalities، إلى أذية وخيمة تؤدي الى اعتلال وظيفي في النبيبات الدانية.

وقد تتطور الأذية إلى نخر نبيبي حاد Acute tubular necrosis [29].

ذُكرت عدة أنماط من الاضطرابات النبيبية الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية الكبرى أهمها :

فرط الكالسيوم البول Hypercalciuria (22%).

فرط حمض يوريك البول Hyperuricosuria (54%)

بيلة سكرية كلوية renal glycosuria .

بيلة بروتينية نبيبية tubular proteinuria.[29-31]

ومن الشائع حدوث بيلة دموية haematuria نتيجة تشكل الحصيات الكلوية renal stones التي تسبب رضحاً trauma في المسلك الكلوي renal tract [32].

تمت الإشارة إلى ازدياد الاطراح البولي لواصمات الأذية في النبيب الداني لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، مثل 2β ميكروغلوبولين، الكالسيوم، الفسفات، حمض اليوريك، في عدد من الدراسات، وكذلك لوحظت بيلة البروتينات منخفضة الوزن الجزيئي لدى معظم المرضى [28-37] .

يعد التحميل المفرط بالحديد وفقر الدم المزمن من أهم العوامل المسؤولة عن الاعتلالات النبيبية ولكن من الصعب تحديد الدور النسبي والمستقل لهذين العاملين باعتبار أن مرضى الثلاسيمية جميعهم يعانون من تحميل مفرط بالحديد وفقر الدم [28].

هنالك عديد من الدراسات التي تدعم دور التحميل المفرط بالحديد في السمية النبيبية الكلوية.

أولاً : تبين الدراسات التجريبية أن الجرذان المحملة بالحديد تصاب ببيلة بروتينية خفيفة تترافق مع توضع الحديد في كل من الكبيبات والنبيبات الدانية والنسج الكلوية الخلالية، بالإضافة إلى تصلب الكبيبات glomerulosclerosis، ضمور نبيبي tubular atrophy وتليف خلالي fibrosis interstitial مع ارتشاح لمفاوي lymphocytic infiltration، بينما التلونات staining الحديدية في النبيبات القاصية كانت مهملة [30،38].

ثانياً : أظهرت الدراسات التشريحية توضعات مهمة للهيموسيديرين في الخلايا الظهارية epithelial الكبيبية وفي التفافات كل من النبيبات الدانية والقاصية [28 ، 30].

وبالتالي يترافق التحميل المفرط بالحديد مع ارتفاع ملحوظ لمستويات الحديد في النسج الكلوية، مما يسبب أذية نسيجية، حيث ينفصل الحديد عن الترانسفيرين في الوسط الحمضي للسائل في النبيب الداني، مما يسبب إنتاج أنواع الأكسجين الفعال. ويترافق ذلك مع تخرب الحافة الفرشاتية brush border لغشاء النبيب الكلوي، وإذا تمكن الحديد من دخول خلايا النبيب الداني مع الترانسفيرين فإنه يمكن أن يتحرر من الترانسفيرين ضمن الجسيمات الحالة ، ثم يغادرها ويدخل الهيولى بشكل حديد فعال، حيث يحرض تشكل أنواع الأكسجين الفعال، فيسبب بالتالي الأذية الخلوية [39] .

يخفز catalyze الحديد الحر في لمعة النبيب tubular lumen تشكل أنواع الأكسجين الفعال السامة التي تؤدي إلى الأكسدة الفائقة للشحوم وتوليد جذور حرة، مما يسبب خللاً وظيفياً في أغشية العضيات الخلوية، وبالتالي إصابة injury أو موت death الخلية [40،41]. ومنه يتظاهر التأثير الإجمالي لهذا الحديد الكلوي عبر الخلل الوظيفي في النبيبات الدانية [29].

إن الارتباط الجيد بين المستويات المصلية للفريتين وواصمات السمية النبيبية[33]، والاعتلالات النبيبية العكوسة التالية للمعالجة بخالبات الحديد [36] تؤكد دور التحميل المفرط بالحديد في السمية النبيبية الكلوية [29]. وكذلك فإن إدخال الحديد إلى العضوية يسبب الأكسدة الفائة للشحوم والكرب المتقدري mitochondrial stress في خلايا النبيبات الدانية. ويبدو هذا واضحاً في ارتفاع تدفق efflux فعالية الإنزيم cytochrme c وتحرر إنزيم اللاكتات النازع للهيدروجين lactate dehydrogenase وإرجاع الأدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP [30،39،42،43].

يمكن لفقر الدم أن يشارك في الخلل الوظيفي النبيبي، إذ يترافق فقر الدم مع الكرب التأكسدي الذي يتدخل في عملية الأكسدة الفائقة للشحوم وفي اعتلالات الوظيفة النبيبية [29،39،44،45]. وبشكل معاكس فإن الكرب التأكسدي يزيد من سوء فقر الدم، كما يحدث في بعض الأمراض الدموية [46].

ومن ناحية أخرى فإن فقر الدم قد يسبب تبدلات مورفولوجية morphological changes في النبيبات الكلوية. ففي دراسة وحيدة أجريت على جرذان فقيرة الدم تبين وجود أذية للنبيبات الدانية وزيادة في حجم الفراغ حول النبيب.

كما أظهرت الدراسات المورفولوجية morphometry studies وجود توسع في الفراغ حول النبيب، يعكس زيادة في حجم كل من الأوعية الشعرية والخلالية ويعتقد أن نقص التأكسج التالي لفقر الدم هو المسؤول عن هذه الاختلالات. ومن الواضح أن نقص التأكسج المزمن يسبب خللاً وظيفياً في النبيبات الدانية، كما يسبب تليفاً خلالياً مما يؤدي، بوجود عوامل خطورة كلوية أخرى، إلى مرض كلوي مترق progressive renal disease[28-30]. كما لوحظت، من جهة أخرى، علاقة ارتباط جيدة بين واصمات الاعتلالات النبيبية من جهة ووخامة فقر الدم لدى مرضى الثلاسيمية [28].

وبالتالي هنالك ارتباط مباشر بين الثلاسيمية والاعتلال النبيبي، حيث أن الثلاسيمية بحد ذاتها تسبب اعتلالاً في النبيبات الدانية، إما من خلال نقص التأكسج المزمن بسبب استمرار فقر الدم أو من خلال توضعات الحديد في النسيج الكلوي [29].

1-3-4-7-2- شذوذات سرعة الترشيح الكبيبي Glomerular filtration rate abnormalities

أشارت العديد من الدراسات، التي أجريت بشكل رئيسي لدى الأطفال، إلى أن قيم تصفية الكرياتينين لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى أعلى من القيم السوية، كما لوحظ وجود فرط الترشيح الكبيبي Glomerular hyperfiltration لدى هؤلاء المرضى [33،34] . وهذا يمكن أن يشبه التبدلات المبكرة التي تشاهد في اعتلال الكلوي السكري diabetic nephropathy [29].

يعود فرط الترشيح الكبيبي إلى فقر الدم الذي ينقص من المقاومة الوعائية vascular resistance المحيطية peripheral والكلوية renal، مما يسبب زيادة تدفق البلازما في الكلية وزيادة سرعة الترشيح الكبيبي [28-30].

إن كلاً من فرط التروية الكبيبية Glomerular hyperperfusion وفرط الترشيح الكبيبي

يسبب تمدد جدران الأوعية الشعرية الكبيبية، الأمر الذي يسبب أذية ظهارية epithelial وبطانية endothelial في الوقت نفسه مع ارتشاح للجزيئات الكبروية macromolecular ضمن مسراق الكبيبة mesangium، وبالتالي فرط في حمل المسراق وخلل في وظيفته.

تؤدي هذه التبدلات على المدى الطويل إلى تراجع تدريجي في Glomerular filtration rate (GFR) الذي سيتفاقم بسبب الفعل المنافس للتحميل المفرط بالحديد[28،30، 39].

يمكن لفقر الدم أن يسبب أذية كبيبية عبر آلية أخرى، إذ أن نقص التأكسج Hypoxia في الخلايا النبيبية قد يسبب استماتة apoptosis الخلايا الظهارية اللحمية المتوسطة-epithelial mesenchymal وبالتالي تليف الكلية .

يحدث نقص التأكسج النسبي في الكلية أيضاً نتيجة ازدياد المتطلبات الاستقلابية في الخلايا النبيبية وكذلك وجود فقر الدم الكلوي renal anemia الذي يؤخر إيتاء deliver الأكسجين[30،47].

تتعرض الكلية في حالة فقر الدم الوخيم غير المعالج إلى خطر حدوث أذية نبيبية خلالية وبالتالي تصلب كبيبي. وأيضاً، يسبب التحميل المفرط بالحديد الأكسدة الفائقة لشحوم الخلايا النبيبية وبالتالي أذية نبيبية. وبالمقابل تفرز الخلايا المتأذية في النسج الخلالية السيتوكينات وعوامل النمو التي تسبب التندب scarring النبيبي الخلالي والتصلب الكبيبي. لذا فإن فقر الدم الوخيم المترافق مع التحميل المفرط بالحديد لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى يؤدي إلى تناقص في GFR [28-30].

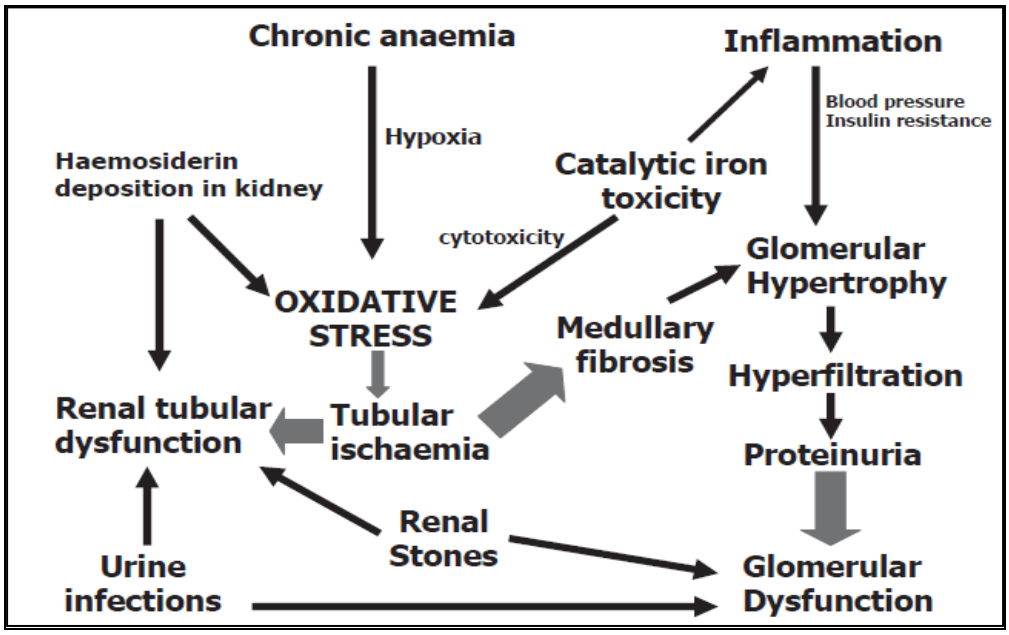
تتداخل عدة عوامل أخرى في الفيزيولوجيا المرضية للأذية الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى وهي :

1- التهابات الكبد الفيروسية B وC الشائعة نسبياً لدى هؤلاء المرضى، نتيجة نقل الدم المتكرر، قد تكون من أسباب المرض الكلوي، بما فيها التهاب الكبب الكلوية [48].

2- يسبب الفشل الكبدي لدى مرضى الثلاسيمية اضطرابات دموية هامة جهازية وكلوية قد تؤدي في نهاية الأمر إلى نقص تروية hypoperfusion الكلية وظهور قلة البول oliguria أو ظهور الزرام (انقطاع البول) anuria[49].

3- يعاني مرضى الفشل القلبي المحرض بالحديد من نقص تروية كلوي شديد ينتج عنه تراجع كبير فيGFR [50].

ويوضح الشكل 2 الآليات الممكنة للاعتلالات النبيبية والكبيبية لدى مرضى الثلاسيمية .



الشكل 2:الآليات الممكنة للاعتلالات النبيبية والكبيبية لدى مرضى التلاسيمية .

(عن Bhandari S ,Galanello R: Renal aspects of thalassaemia a changing paradigm (29).(Europ J Haematol 89 :187- 197 ,2012.

1-3-5- التدبير العلاجي

يتضمن التدبير العلاجي Therapeutic management لمرضى الثلاسيمية بيتا الخطوات التالية:

1-3-5-1- نقل الدم Blood transfusion

يكون اتخاذ القرار بنقل الدم لدى مرضى الثلاسيمية معقداً، ويعتمد على وخامة أعراض وعلامات فقر الدم وفشل النمو والتطور ووجود تبدلات هيكلية. ومن الضروري تقييم المريض عدة أشهر بعد التشخيص قبل نقل الدم .

يزداد في الثلاسيمية الوخيمة تكون الكريات الحمراء أكثر من خمسة أضعاف، كذلك تفوق كمية الحديد الممتصة فقدان الحديد، مما يسبب زيادة في حديد الجسم، وبالتالي من الضروري نقل الدم ليس فقط لتصحيح فقر الدم وإنما أيضاً لكبت تكون الكريات الحمراء وتثبيط امتصاص الحديد المعدي المعوي الزائد .

يكون الهدف من نقل الدم المحافظة على تراكيز هيموغلوبين بين 13-14غ/دل، لمنع معظم مضاعفات فقر الدم ، ومنع تكون الكريات الحمراء اللا فعال[51] .

تبين أن إخضاع الأطفال المصابين بالثلاسيمية الوخيمة لبرنامج نقل دم متكرر يحافظ على نشاطهم العام ، كما تنخفض عندهم اضطربات وظائف القلب، وتقل التبدلات العظمية والسنية غير السوية.

يعد التحميل المفرط بالحديد من أهم مضاعفات نقل الدم complication of blood transfusion. وإن تكرار نقل الدم يسبب مضاعفات أخرى منها:

1- التمنيع الذاتي للكريات الحمر .

2- التهاب الكبد B،التهاب الكبد C.

3- إمكانية الإصابة بعوز المناعة المكتسب [51].

1-3-5-2- استئصال الطحال Splenectomy

يتضخم الطحال بزيادة عدد مرات نقل الدم، وتعد زيادة الحاجة السنوية لنقل الدم عن 180- 200 مل وحدة كرية / كغ من وزن الجسم، دلالة على فرط الطحالية، وبالتالي يصبح استئصال الطحال حاجة يعتد بها.

يشكل تضخم الطحال، قلة الكريات البيض leukopenia وقلة الصفيحات استطباباً لاستئصال الطحال.

يزيد استئصال الطحال خطر الاصابة بالانتانات الشديدة مثل التهاب الرئة والتهاب السحايا، لذلك من الضروري تقييم استطبابات استئصال الطحال وتأجيله إذا كان بالإمكان إلى ما بعد السنة الخامسة من العمر.

من الضروري تلقيح الأطفال قبل الجراحة باللقاح المضاد للمكورات الرئوية، ويجب إعطاء البنسلين وقائياً لمدة لا تقل عن السنتين بعد الجراحة [52].

1-3-5-3- المعالجة بخلب الحديد Iron chelating therapy

يعد التحميل المفرط بالحديد واحداً من أكثر العوامل المهددة للحياة، وهو المسؤول الرئيسي عن الإمراضية المتأخرة والوفاة لدى مرضى الثلاسيمية الكبرى. وهنا تبرز أهمية استخدام خالبات الحديد لدى هؤلاء المرضى [14] .

إن أكثر المعالجات الخالبة للحديد أهمية هي تسريب deferoxamine (DFO)، من الخالبات سداسية الارتباط ، وريدياً أو تحت الجلد.

يعد DFO الخالب الذهبي المعياري الذي تقارن به الخالبات الأكثر حداثة، حيث يمكن أن يقدم خلال الليل عبر مضخة تعمل على البطارية وتكون الجرعة بحدود 20-60 مغ/كغ/يوم.

وينصح باعتماد التسريب الوريدي المستمر خلال 24 ساعة وبجرعة 100مغ/كغ/يوم لدى المرضى الذين يعانون من اضطراب في النظم مع فشل وخيم في البطين الأيسر كنتيجة لتراكم الحديد في القلب [53].

يملك deferoxamine تأثيرات سمية على المدى الطويل، تتجلى بتفاعلات جلدية تحسسية ورد فعل التهابي (ارتكاس) في مكان الحقن[53]. ويمكن أن تسبب الجرعات العالية فقدان الرؤيا المركزية، العمى الليلي، بسبب الاضطرابات في الشبكية والعصب البصري، هذه الاذيات عكوسة بمجرد سحب الدواء. ترتفع معدلات فقدان السمع لدى المرضى الأصغر سناً والذين تنخفض لديهم مستويات الفريتين، لذلك ينصح باجراء تخطيط السمع سنوياً لدى المرضى المعالجين مطولاً بـ DFO، يطرأ تحسن ملحوظ بعد انقاص الجرعة لدى من كانت الأذية السمعية لديهم ضعيفة، ولكن في الحالات الشديدة لفقدان السمع لا يظهر هذا التحسن حتى عند ايقاف المعالجة [14،54].

يعد deferiprone (DFP) بديلاً فموياً للديفيروكسامين، فهذا المركب ينتمي إلى مجموعة الجزيئات ثنائية الارتباط وبسبب صغر حجمه فهو قادر على المرور عبر الأغشية، ليخرج الحديد من الأنسجة إلى مجرى الدم [55] .

تشتمل التأثيرات السمية للديفيربون على ندرة المجببات agranulocytosis، قلة العدلات neutropenia، اعتلال مفصلي Arthropathy، تبدلات في الإنزيمات الكبدية، قهم anorexia وعوز في التوتياء[56،57] .

ومن الخالبات الحديثة المستعملة deferasirox وهو مركب صنعي ثلاثي الارتباط فعال فموياً شديد النوعية للحديد بجرعة وحيدة يومياً. وقد أظهر هذا الدواء نتائج ممتازة خلال الدراسات السريرية من خلال قدرته على تخفيض تراكيز الحديد الكبدية وتراكيز الفيريتين المصلية[58،59] .

1-3-5-4- المعالجة الأعراضية Symptomatic treatment

يجري تقييم النمو الشاذ وتطور البلوغ لدى مرضى الثلاسيمية بشكل مستمر من قبل أخصائيين. وكذلك ينبغي أن يتضمن التقييم الهرمونات الجنسية وسمية الديفيروكسامين. ويشتمل التدبير لدى هؤلاء المرضى على معالجة الداء السكري والعوز الهرموني [51-60].

كما ينبغي أن تجري معالجة المرض القلبي في حال ظهوره بإعطاء المدرات، الديجوكسين ومثبط الإنزيم القالب للأنجيوتنسين [51].

1-3-5-5- زرع نقي العظم Bone marrow transplantation

في السنوات الأخيرة، بدأت زراعة نقي العظم تعد تدبيراً شافياً وكأحد المعالجات المختارة للثلاسيمية، وهي تعتمد على وجود معط له الزمرة النسيجية ذاتها الخاصة بالمريض. وعلى الرغم من ذلك يحتمل أن يتطور لدى المريض مرض مزمن مضاد للطعم graft وقد تتطور لدى المريض أيضاً مضاعفات ناجمة عن مرض أولي أو عن معالجة سابقة، نذكر منها المرض القلبي والتهاب الكبد الفيروسي والخلل الوظيفي الصماوي[51].

1-3-6- خالبات الحديد والسمية الكلوية Iron chelating and renal toxicity

يمكن لخالبات الحديد المستعملة لدى مرضى الثلاسيمية الكبرى أن تؤثر على الوظيفة الكلوية renal function، إما من خلال تأثيرات ما قبل كلوية prerenal effects، كنتيجة لنفاذ الحجم volume depletion بسبب التأثيرات الجانبية كالإسهالات diarrhea والإقياءات vomiting، وإما من خلال تأثيرات سمية كلوية نوعية specific nephrotoxicity[29].

ولقد اقترح أن خلب الحديد السريع المستدل عليه من الانخفاض السريع لقيم فيريتين المصل، يرتبط مع الاعتلال في الوظائف الكلوية، كما أن وجود أمراض أخرى مثل الداء السكري من النمط الثاني وارتفاع الضغط الأساسي يزيد من قابلية تطور آثار جانبية كلوية [29].

وفي دراسات سابقة لدى مرضى الثلاسيمية تبين أن 14% من المعالجين بالديفيروكسامين ارتفعت لديهم مستويات الكرياتينين المصلية. يعود هذا التأثير إلى نفاذ الحديد iron depletion الذي يؤثر على الوظيفة الكلوية بسبب الخلل الوظيفي في المتقدرات [29]، كما أشير إلى وجود حالات من الفشل الكلوي الحاد والتي تطلبت معالجة بالديال dialysis لدى مرضى الثلاسيمية المعالجين بالديفيروكسامين، نتيجة فرط جرعة بسبب استخدام مضخة غير صالحة، أو بسبب سوء مراقبة الجرعة أثناء المعالجة. وكان هذا الفشل الكلوي عكوساً مما يشير إلى وجود أذية كلوية حادة[28،61].

إن الأذيات الكلوية الحادة غير المترافقة مع قلة البول تنتج عن أذية نبيبية تسبب بها الديفيروكسامين، حيث يؤثر هذا الخالب على كل من تدفق الدم في الكلية وسرعة الترشيح الكبيبي، مما يسبب ارتفاعاً في الكرياتينين المصل، خاصة عند تناول الجرعات عالية أو عند استعمال الجرعات الطبيعية لدى المرضى الأكثر اختطاراً (مثل السكريين، مرتفعي الضغط، المصابين بالبيلة البروتينية، كبار السن والمصابين بخلل كلوي غير صريح)، وتعود الأمور إلى طبيعتها بعد توقف المعالجة [29].

أظهرت الدراسات على الحيوانات أن خالب الحديد deferasirox يسبب أذية الخلايا الظهارية في النبيبات الكلوية [14]. أشير إلى عدة تأثيرات كلوية وإلى ارتفاع عكوس في كرياتينين المصل لدى مرضى الثلاسيمية المعالجين به[62]. وتبين حدوث أذية كلوية حادة لدى مرضى الثلاسيمية المتقدمين بالعمر وممن لديهم أمراض وخيمة، مثل التليف الكبدي، وذلك خلال متابعة المعالجة بالخالب الفموي deferasirox [63].

إن الارتفاع العكوس لقيم كرياتينين المصل مرتبط بنفاد نسبي للحديد أكثر من ارتباطه بتأثير سمي كلوي يعود لأي من الخالبين. فمهما كانت جرعة الخالب deferasirox المستخدمة فإن ارتفاع الكرياتينين يظهر لدى مرضى ثلاسيمية لا ينقل لهم الدم بشكل منتظم ولدى من تنخفض لديهم سويات الحديد الكبدية وقيم فيريتين المصل [28].

أشارت الدراسات إلى أن التأثيرات الكلوية لخالب الحديد deferiprone الفموي سليمة [29]، إلا أنه على الرغم من ذلك يمكن أن يسبب ندرة المحببات في 1%من الحالات مما يتطلب ايقاف المعالجة [55].

فندرة المحببات قد تسبب:

1- أذية كلوية حادة في حال حدوث انتان وخيم.

2- اضطراب في الديناميكية الدموية hemodynamic decomposition.

3- تنخر نبيبي حاد.

وعلى الرغم من ندرة هذا الأثر الجانبي فإن الانتان يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار لأنه مسؤول عن نسبة كبيرة من الأذيات الكلوية الحادة [29].

إن آلية الأذية الكلوية عند المعالجة بخالبات الحديد غير معروفة تماماً [29]، فالحديد يتدخل في العديد من العمليات الاستقلابية، إذ تستخدمه عدة إنزيمات كعامل تميم cofactor في تفاعلاتها التحفيزية. فإنزيمات السيتوكروم التي تلعب دوراً مهماً في إنتاج الطاقة الخلوية، من خلال النقل المتقدري للالكترونات، هي إنزيمات تحتوي على الهيم، وهناك العديد من الإنزيمات تحتوي على حديد غير هيمي مثل سوكسينات ديهيدروجيناز succinate dehydrogenase تلعب أيضاً دوراً مهماً في انتاج الطاقة [64]، وبالتالي فإن أي نفاد نسبي مفاجئ للحديد قد يسبب أذية في الوظيفة المتقدرية ضمن الخلايا النبيبية [28].

يتدخل نفاد الحديد أيضاً مع شلال حمض الأراشيدونيك في المرحلة الأخيرة من انتاج البروستاغلاندينات، الأمر الذي ينجم عنه تبدلات في الديناميكية داخل الكلوية وفي سرعة الترشيح

الكبيبي. كما أن نفاذ الحديد سيؤثر على الغشاء المتقدري ويسبب اضطراب عمل السلسلة التنفسية، الأمر الذي سينتهي بتخرب النبيبات. ويبدو أن النبيبات الدانية أكثر حساسية لهذه الأذية [28،29].
إن عودة GFR السريعة إلى مستوياتها الأساسية بشكل عفوي أو بعد تخفيض جرعة خالبات الحديد تؤكد أن تراجع سرعة الارتشاح الكبيبي يعود لتبدلات دموية ديناميكية عكوسة [28].

1-3-7- قياس الوظيفة الكلوية [29،65]

1- فحص البول الصباحي : باستخدام الشرائط (غميسة) Dipstick لتحري كل من pH البول البروتين، الهيموغلوبين، الغلوكوز، الأجسام الكيتونية، النتريت، الكريات البيضاء، كثافة البول [29].

2- الكرياتينين وسرعة الترشيح الكبيبي: تجري مقايسة الكرياتينين وسرعة الترشيح الكبيبي مرة كل ثلاثة أشهر لدى مرضى الثلاسيمية. تتأثر قيم كرياتينين المصل بمنسب كتلة الجسم وبالكتلة العضلية، وبالتالي وجود قيمة كرياتينين المصل ضمن المجال الطبيعي لا تشير بالضرورة إلى وظيفة كلوية طبيعية [65].

3- مقايسة البولة الدموية: يستخدم قياس البولة الدموية بشكل مشارك لتركيز كرياتينين المصل، إذ أن الارتفاع المتناسب بينهما قد يدل على خلل كلوي. لا يمكن الاعتماد على اليوريا وحدها لكونها مشعراً غير دقيق لإعتلالات الكلية، إذ انها قد ترتفع لأسباب غير كلوية كما في تناول الغذاء عالي البروتين، التجفاف، النزف الهضمي[65].

4- البيلة البروتينية والبيلة الألبومينية الزهيدة: تجرى اختبارات البيلة البروتينية شهرياً لدى مرضى الثلاسيمية المعالجين بالخالبات، ويمكن اعتبار البيلة الألبومينية الزهيدة مؤشراً لمراقبة تطور الأذية الكلوية [29].

5- تقييم الوظيفة النبيبية: لا بد من تحري الوظيفة النبيبية لدى مرضى الثلاسيمية، ولقد جرى اكتشاف العديد من الواصمات البولية النبيبية ترتفع بشكل مبكر عند حدوث أذية نبيبية، من أهمها إنزيم N-أسيتيل -بيتا-D-غلوكوزأمينيداز[29].

2 - إنزيم N أسيتيل بيتا-D -غلوكوزامينيداز

N-Acetyl-D-Glucosaminidase

2 - 1 - مقدمة

أشير إلى وجود إنزيم N- أسيتيل بيتا - D - غلوكوزأمينيداز (NAGase) N-Acetyl-D-Glucosaminidase في الثدييات عام 1936[66]. وتبين بعد ذلك أن هذا الإنزيم يحلمه الرابط الغليكوزيدي β (β-glycosidic) لسكريين أمينيين هما N-acetyl-D-galactosamine وN-acetyl –D-glucosamine ولذلك سمي β-hexosaminidase، يوجد هذا الإنزيم في الجسيم الحال lysosomal، مما ينسجم مع درجة pH الحمضية المثلى له [67] .

إنزيم N - أسيتيل بيتا - D - غلوكوزأمينيداز إنزيم محلمه hydrolytic enzyme، يقوم بكسر break الروابط الكيميائية chemical bonds للغليكوزيدات glycosides وللسكاكر الأمينية التي تشكل المكونات البنيوية structural components في العديد من النسج، وهو ضروري لتدرك degradation والتخلص من أجزاء متنوعة من الخلية خاصة غشاؤها[68].

يعد NAGase من إنزيمات الجسيمات الحالة الواسعة الانتشار في نسج الجسم، يطلق released في المصل والبول وفي البلازما عند انهيار breakdown الخلايا أو بسبب الايماس exocytosis. وبسبب وزنه الجزيئي molecular weight المرتفع الذي يتراوح بين 130و 140 KDa فإنه لايرتشح بشكل طبيعي عبر الكبيبات. توجد تراكيز منخفضة من NAGase في البول بشكل طبيعي بسبب الايماس exocytosis والاحتساء pinocytotic في الخلايا الظهارية epithelial cells [68].

يزداد الاطراح البولي لإنزيم N - اسيتيل - بيتا -D - غلوكوزأمينيداز لدى المرضى الذين يعانون من اضطرابات في وظائف الكلية بسبب أمراض كلوية متعددة. ويمكن اعتماده كواصم marker حساس sensitive ومبكر early للإصابة الكلوية النبيبية renal tubular injury في بدايتها، حيث يرتبط ارتفاعه المستمر في البول مع ضرر كلوي مترقي progressive damage renal [69]. إن هذه التبدلات عكوسة، حيث يعود نشاط هذا الإنزيم إلى مستوياته الأصلية عند الشفاء[68].

يملك إنزيم N - اسيتيل - بيتا -D -غلوكوزأمينيداز البولي كل الصفات التي أشار إليها Gonick و زملاؤه لاختيار الإنزيمات التي قد تكون مفيدة في الكشف عن الاعتلالات الكلوية [70]. وبالتالي

فهو مرشحاً ممتازاً للتشخيص السريع والمبكر لأنماط متباينة من الاعتلالات والأمراض الكلوية. ويضاف إلى ذلك وجود طرق تحليلية موثوقة وغير مكلفة ومتوفرة تجارياً لمقايسة الإنزيم [71].

2-2- النظائر الإنزيمية

بين كل من Robinson و Stirling عام 1968[72] أن فاعلية إنزيم N - أسيتيل بيتا - D - غلوكوزأمينيداز في الطحال لدى الإنسان إنما تعود إلى وجود نظيرين إنزيميين isoenzymes الحمضي acidic (A) والأساسي basic (B).

يختلف هذان الإنزيمان في الحساسية تجاه الحرارة heat sensitivity وفي الثباتية stable في البول الحامضي [71]. وكلا النظيرين جرى عزلهما من المشيمة من قبل Geiger & Arnon عام 1976[73]، ومن الكلية عام 1977 من قبل Marinkovic وWiktorowicz [74]، كما جرى الكشف عن وجود نظائر أخرى في النسج البشرية وهي إنزيمات ذات نقاط تساوي كهربية isoelectric points تقع بين نقطتي التعادل للنظيرين الرئيسيين [71] ومنها:

1- تمت الاشارة إلى وجود النظير P في مصل السيدات الحوامل من قبل Stirling عام 1972[75]، يتحرك هذا النظير في الرحلان الكهربي electrophoresis بحركة متوسطة، ويشكل 68% من فاعلية NAGase في نهاية فترة الحمل [71].

2- أشار Price وDance عام 1972[76] إلى وجود النظير الإنزيمي I_2 والنظيرI_1 في المصل الطبيعي، يمكن فصلهما بالاستشراب chromatography على DEAE-cellulose وتتحرك هذه النظائر في الرحلان الكهربي بحركة متوسطة.

3- أشار Gerbner وTucker عام 1973[77] إلى وجود النظير M في بول الذكور.

4- النظير S هو نظير إنزيمي غير ثابت يتواجد في المصل يملك نقطة تساوي كهربية شديدة الحموضة ، ويهاجر بشكل أسرع من النظير A النسيجي في الرحلان الكهربي. إن البقية الفعالة من NAGase في مرض ساندوف تتواجد بالشكل S [71].

5- أشار Braidman عام 1974[78] إلى وجود النظير C في الدماغ، وهو نظير إنزيمي سريع الهجرة في الرحلان الكهربي، يمتلك pH مثلى متعادلة [71].

6- أشار Ellis و زملاؤه إلى وجود النظير المصلي A^S . وهو يمتلك نقطة تساوي كهربية أعلى من تلك العائدة للنظير A [79].

نجد في البول الطبيعي كميات صغيرة من إنزيم N -أسيتيل -بيتا-D غلوكوز أمينيداز خاصة النظير A كمحصلة لنظام النقل من وإلى خارج النبيبات الدانية. وإن أي خلل في نظام النقل سيؤدي إلى ارتفاع إطراح نظائر الإنزيم بما فيها الأشكال الوسيطية، الأمر الذي يعتبر مشعر مبكر ممتاز لأي أذية نبيبية مهما كان نوعها [71].

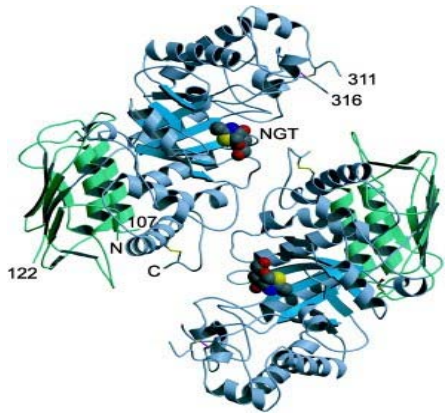
2-3- البنية البروتينية والتعبير الجيني

جاء الفهم الأولي للعلاقة البنيوية بين HexA وHexB من خلال الدراسة المناعية التي أجراها كل من Srivastava و Beutler عام 1973[80]. والتي أظهرت أن إنزيمات N - أسيتيل بيتا - D - غلوكوز أمينيداز (NAGase) اليحلولية الفعالة تتواجد بشكل مثنوي. وتتشكل من خلال انضمام الوحيدات α و β إلى بعضها [81].

إن النظير الإنزيمي HexA عبارة عن مثنوي متغاير heterodimer يتألف من وحيدتين غير متماثلتين، احداهما حمضية α والثانية قلوية β، كما هو موضح في الشكل 3، بينما النظير الإنزيمي HexB عبارة عن مثنوي متجانس homodimer يتألف من وحيدات قلوية β فقط، كما هو موضح في الشكل 4. أما النظير الإنزيمي S فهو عبارة عن مثنوي متجانس homodimer من الوحيدات α [81، 82].

الشكل 3 : النظير الإنزيمي HexA.

(عن Lemieux MJ,Mark BL,Cherney MM,Withers SG,Mahuran DJ,James MN.Crystallographic Structure of Human β-Hexosaminidase A:Interpretation of Tay-Sachs Mutations and Loss of GM2 Ganglioside Hydrolysis.J Mol Biol. 2006 ; (82).(359(4): 913–929



الشكل4 : النظير الإنزيمي Hex B .

(عن Mark BL, Mahuran DJ, Cherney MM, Zhao D, Knapp S, James MN. Crystal Structure of Human β-Hexosaminidase B: Understanding the Molecular Basis of Sandhoff and Tay–Sachs Disease. J Mol Biol. 2003 :327 (5): 1093–1109).(67)

يجري شطر الوحيدة α في مرحلة ما بعد الترجمة، للحصول على الشكل الناضج mature form الذي يتألف من سلسلتي عديد ببتيد:

- الأولى (αp) تتكون من 52 حمضاً أمينياً وزنها الجزيئي 7 kDa. وهي αLys23 إلى αGly74.

- الثانية (αm) تتكون من 440 حمضاً أمينياً وزنها الجزيئي 54 kDa. وهي αThr89 إلى αGln528[82].

بينما يجري شطر الوحيدة β في مرحلة ما بعد الترجمة للحصول على الشكل الناضج والذي يتألف من 3 سلاسل عديدة الببتيد:

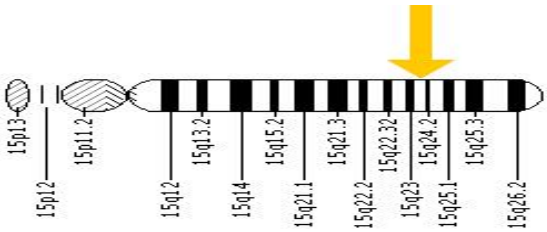
- الأولى (βp) تتكون من 58 ثمالة وزنها الجزيئي 7 kDa. وهي βAla50 إلى βGly107

- الثانية (βb) تتكون من 190 ثمالة وزنها الجزيئي 24-26 kDa. وهي βThr122 إلى βSer311 .

- الثالثة (βa) تحوي 241 ثمالة وزنها الجزيئي 30 kDa. وهي βLeu316 إلى βMet556.

ولقد جرى تحديد التركيب الدقيق للسلسلتينα وβ بالاعتماد على نسائل الدنا التتميمية cDNA[82].

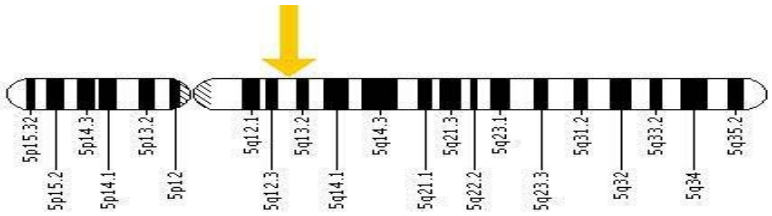
يجري ترميز الوحيدة α من قبل الجين *HEXA* وهي بطول kb35 وتحتوي exon 14 تقع على الصبغي 15(chr15q23-q24)، كما هو موضح في الشكل 5 .



الشكل5: جين *HEXA*.

(عن US National Library of Medicine. (2008, September). Retrieved December 16, (83).(2013, from Genetics Home References:http://ghr.nlm.nih.gov/gene=hexA

بينما ترمز الوحيدة β من قبل الجين *HEXB* هي بطول 45kb وتحتوي أيضا على exon14 وتقع على الصبغي 5 (chr5q13)، كما هو موضح في الشكل 6.



الشكل 6 : جين *HEXB* .

(عن US National Library of Medicine. (2008, September). Retrieved December 16, (84).(2013, from Genetics Home References:http://ghr.nlm.nih.gov/gene=hexB

تتوضع فعالية المعزاز Promoter في الأزواج الـ 100 أو 150، على الترتيب من رامزة البدء (ATG) codon، وهي مواقع غنية بـ GC.

تبدي الجينتان *HEXA* و*HEXB* تماثلاً كبيراً في كل من عدد وتوضع exon/intron، حيث تظهر الأنترونات في 12 موقعاً متماثلاً من أصل 13 موقعاً.

يتطلب التعبير عن HexA وجود الصبغيين 5 و15 بشكل متزامن، بينما يتطلب التعبير عن HexB وجود الصبغي رقم 5 فقط [67].

4-2- التخليق البيولوجي والتعديلات التالية للترجمة (85،81،67)

يتطلب التعبير عن الإنزيمين HexA وHexB في الجسيمات الحالة معالجة تخليقية حيوية لمكونات السبل الإفرازية secretory ومكونات الجسيمات الحالة .

تعد التعديلات التالية للترجمة post-translational modifications المكتسبة acquired من قبل عديدات الببتيد خلال التخليق البيولوجي من الصفات المميزة للعضيات الخلوية، مثل الشبكة الهيولية الباطنة ER، جسيم غولجي، شبكة trans-Golgi والجسيم الحال وذلك خلال تنقل عديدات الببتيد عبرها واستقرارها النهائي في أحد هذه العضيات.

- الشبكة الهيولية الباطنة Endoplasmic Reticulum

تمتلك هذه الشبكة الآليات الخلوية للترجمة، لإضافة السكاكر إلى النهاية N، لتشكيل الروابط ثنائية الكبريت ولطي fold وتجميع عديدات الببتيد. كما أنها تحتفظ بعديدات الببتيد المطوية بشكل ناقص أو غير صحيح ثم تعمل على تدركها.

يجري اصطناع الوحيدات α وβ للهكزوزامينيداز في البداية مع نهاية أمينية (متوالية كارهة للماء Hydrophobic).

يتألف ما قبل عديد الببتيد α من 529 حمضاً أمينياً، في حين تحتوي سلسلة ما قبل عديد الببيتيد β من 544 حمضاً أمينياً،حيث تتطابق السلسلتين بنسبة 60%من محتواهما.

تجري إزالة متواليات الإشارة signal sequences من قبل إنزيم signal peptidase خلال العمليات المرافقة للترجمة co-translational targeting في لمعة الشبكة الهيولية الباطنة. وهنا يقوم إنزيم oligosaccharyltransferase بنقل قليلات السكاريد oligosaccharides الغنية بالمانوز من معطٍ donor لقليلات السكاريد إلى مواقع مستقبلة acceptor sites تحوي الأسبارجين، يوجد في عديد الببتيد الوليد nascent ثلاثة مواقع على الوحيدة α وأربعة مواقع على الوحيدة β.

إن التخلص من أحد هذه المواقع المستقبلة لقليلات السكاريد لا يؤثر بشكل يعتد به على فعالية إنزيم الهكزوزأمينيداز، لكن فقدانها كاملة من الوحيدة α يؤثر على التشكل الفراغي للبروتين نفسه، مما يؤدي إلى احتباسه في الشبكة الهيولية.

من غير المعروف حدوث ترتيب للروابط ثنائية الكبريت في وحيدات الهكزوزأمينيداز مع استثناء وحيد على مستوى الرابط بين Cys 309-Cys 360 في الوحيدة β. وإن تجميع وحيدات الطليعة

عملية مهمة في حلقة الهكزوزأمينيداز، وهي حساسة جداً للطفرات. ومن الضروري تشكل المثنوي dimerizationللحصول على النشاط التحفيزي catalytic activity. ومنه نحصل على ثلاثة أشكال للإنزيم (αβ) HexA، (ββ) HexB، (αα)HexS، ولكل منها ركازته النوعية.

يحدث تشكل مثنوي HexB (تجمع سلسلتي β) في الشبكة الهيولية الباطنة بسرعة بمجرد دخوله إليها.

بشكل معاكس، إن تجميع السلسلتين α و β لتشكيل HexA يحدث بشكل أكثر بطئاً، حيث يجري تجمع الوحيدات α حديثة التخليق وغير المجمعة قبل انضمامها إلى الوحيدات β، وتجري عملية تجمع الوحيدات α مع الوحيدات β الحديثة التخليق خلال عدة ساعات من تخليق الوحيدات α. وبعد تجميع الوحيدتين α و β يجري ايصالها بسرعة إلى الجسيمات الحالة.

حتى الآن لم يحدد مكان تجميع الوحيدات، رغم أنه من المتوقع أنه يحدث في الشبكة الهيولية الباطنة، التي تمتلك خاصة الاحتفاظ بعديدات الببتيد غير المجمعة.

- جهاز غولجي Golgi

يتم في جهاز غولجي وفي الاحياز قبله pre-Golgi compartements التعرف على البروتينات المخصصة للجسيمات الحالة عبر إنزيم UDP-N-acetylglucosamine 1- phosphotransferase، الذي ينقل GlcNac-phosphate إلى ثمالات المانوز في السلاسل الجانبية قليلة السكاريد.

إن التعرف phosphotransferase على المواقع الارتكازية attachment sites يجري تحديده من خلال ثمالات الليزين على سطح بروتين الجسيم الحال، ثم تُزال ثمالة GlcNac النهائية في مرحلة تالية من قبل إنزيم آخر يوجد في جهاز غولجي، والذي يتسبب بعرض بنية mannose-6-phosphate الضرورية لاستهداف الجسيم الحال. وأخيراً يجري التعرف على ثمالات mannose-6-phosphate من قبل مستقبلات تفرز البروتينات السكرية إلى الجسيمات الحالة.

تجري فسفتة phosphorylation السلاسل قليلة السكاريد بشكل نوعي في الوحيدات α وβ، حيث تجري على السلاسل الأولى والرابعة في الوحيدة α وعلى الثالثة في الوحيدة β. إن هذه النوعية في الفسفتة تعكس المسافة النسبية relative distances بين محددات التعرف على الفسفوترانسفيراز والسلاسل قليلة السكاريد .

- الجسيمات الحالة Lysosomes

تجري ضمن الجسيمات الحالة سلسلة من عمليات تحلل البروتين proteolytic وإضافة سكاكر glycosidic لتحول كلاً من pro α polypeptide وزنها الجزيئي 67 kDa وpro β polypeptide وزنها الجزيئي 63 kDa إلى قطعتين أو ثلاث قطع من عديد ببتيد أصغر، على الترتيب، الأمر الذي يؤدي إلى تشكل الوحيدة α الناضجة المؤلفة من ببتيدين ، وتشكل الوحيدة β الناضجة المؤلفة من 3 ببتيدات. وفي كلتا الحالتين ترتبط الأجزاء الببتيدية مع بعضها بروابط ثنائية الكبريت.

2-5 - الدورالحيوي لإنزيم N-أسيتيل -بيتا -D -غلوكوزامينيداز

تنتمي النظائر الإنزيمية البشرية لإنزيم N -أسيتيل - بيتا - D - غلوكوز أمينيداز إلى عائلة الغليكوزيدازات المؤلفة من 20 غليكوزيد هيدرولاز ذات تسلسل متقارب [67].

تعد هذه الإنزيمات الذوابة بالماء نوعية للنهائيات السكرية الغير مختزلة non- reducing terminal sugar عند الارتباط β (β linkage) .

يمكن لهذه النظائر الإنزيمية أن تحرر الموحود monomer النهائي غير المختزل بيتا -N أسيتيل غلوكوزأمين (GlcNAc) وبيتا - N أسيتيل غالاكتوزأمين (GalNAc) من البروتينات السكرية glycoproteins والغليكوأمينوغليكان، وكذلك يستطيع النظير الإنزيمي Hex A إزالة ثمالة β-GalNAc النهائية من بعض الشحوم السكرية glycolipid مثل الغانغلوزيدات G_{M2}. وتتطلب هذه العملية وجود البروتين المفعل لـ G_{M2} [82].

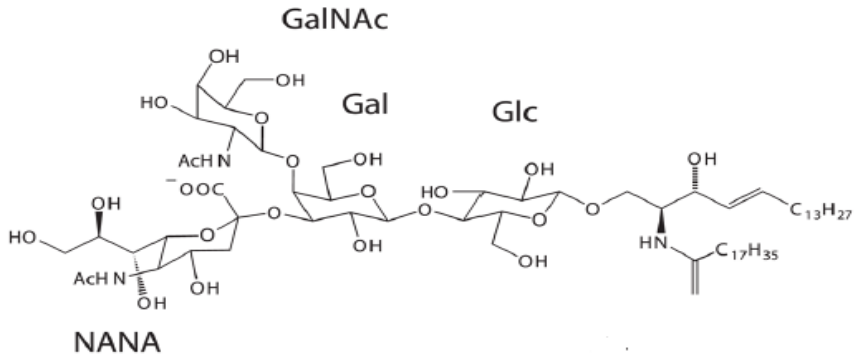
2-5-1- نوعية الركازة substrate specificity

ممكن للنظائر الإنزيمية الثلاثة حلمهة طيف واسع من الركازات، مماثلة في ذلك إنزيمات الجسيمات الحالة الأخرى.

تختلف الوحيدات α وβ في نوعيتها للركازات، حيث تحلمه الوحيدة β بشكل مفضل الركازات المعتدلة الذوابة في الماء بما فيها الركازة التخليقية synthetic substrate (MUG) 4-methylumbelliferone، وبالإضافة إلى ذلك فإن الوحيدة α تحلمه الركازات المشحونة سلبياً مثل عديدات السكاريد التي تحوي ثمالة ماقبل أخيرة مشحونة كما في كبريتات الديرماتان dermatan sulfate وكبريتات الكندرويتين chondroitin sulfate، وكما تحلمه أيضاً الركازة الاصطناعية artificial substrate (MUGS) 4-methylumbelliferone-N-

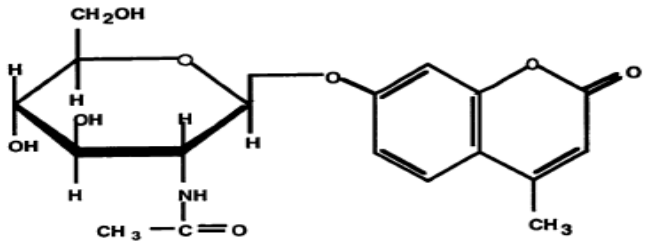
acetylglucosamine-6-sulfate وثمالة $GlcNAc\text{-}6\text{-}SO_4$ في كبريتات كيراتان keratan sulfate. ويحلمه HexA الغانغليوزيد G_{M2} المرتبط بالغشاء، المشحون سلبياً (بسبب ارتباطه بحمض السياليك N-acetyl-neuraminic acid) بوجود البروتين المفعل activator protein [82،81،67].

وتبين الأشكال7و8 و9 الركازات المحلمهة من قبل إنزيم NAGase



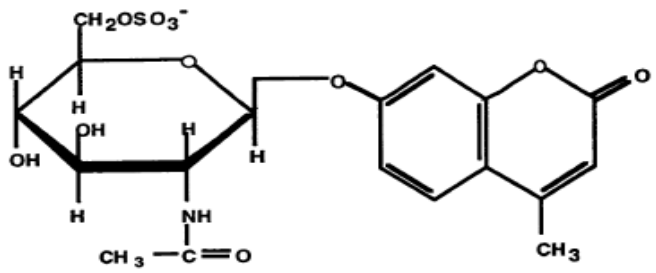
الشكل 7 : بنية الغانغلوزيد G_{M2}.

(عن Lemieux MJ, Mark BL, Cherney MM, Withers SG, Mahuran DJ, James MN. Crystallographic Structure of Human β-Hexosaminidase A:Interpretation of Tay-Sachs Mutations and Loss of GM2 Ganglioside Hydrolysis.J Mol Biol. (82).(2006 ;359(4): 913–929)



الشكل 8: بنية الركازة 4-methylumbelliferyl-B-N-acetylglucosaminide (MUG).

(عن Tse R .Characterization of the active site of β-Hexosaminidase. National (85).(Library of Canada .1998



الشكل 9: بنية الركازة 4-methylumbelliferone-N-acetylglucosamine-6-sulfate (MUGS).

(عن Tse R .Characterization of the active site of β-Hexosaminidase. National (85).(Library of Canada .1998

2-5-2- المقرات الفعالة للهكزوأمينيداز والتحفيز

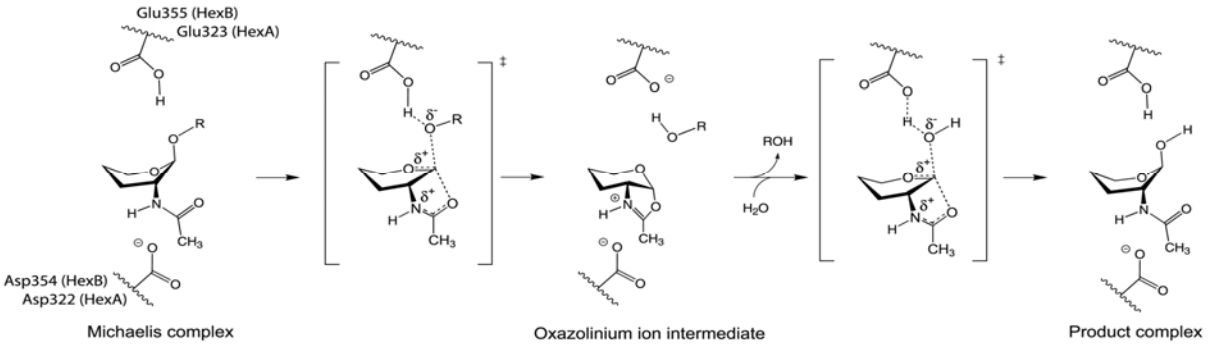
تمتلك كل من الوحيدتين α و β مقراً فعالاً active sites، وعلى الرغم من ذلك لابد من وجود التركيب المثنوي للحصول على النشاط التحفيزي. جرى استعراف ثمالات المقر الفعال في الهكزوزأمينيداز البشرية، فتبين وجود Glu355 في المقر الفعال للنظير الإنزيمي Hex B. حيث أدى تغيير هذا الحمض الأميني إلى فقدان النشاط الإنزيمي بدون تخرب ارتباط الركازة بالمقر الفعال، مما يدل على أهمية Glu355 في العمل التحفيزي للنظير HexB، بينما تبين دور Glu323 كثمالة المقر الفعال في النظير الإنزيمي HexA، وبالتالي يعد Glu355 ثمالة تحفيزية catalytic residue في الوحيدة β وGlu323 ثمالة تحفيزية في الوحيدة α [81].

تقوم ثمالة الغلوتامات Glu323 α وGlu355 β بدور حمض - أساس عام، يساعد في شطر الرابط β لثمالات GlcNAc وGalNAc من الركازات، بادخال البروتون إلى ذرة الأكسجين الغليكوزيدي في ثمالات GlcNAc وGalNAc.

تؤمن ثمالة الأسبارتات القريبة αAsp322 وβAsp354 مجموعات الكربوكسيلات المشحونة سلبياً، والتي تحافظ على استقرار شاردة الـ oxazolinium الوسطية المشحونة ايجابياً، التي تتشكل خلال عملية التحفيز بمساعدة الركازة substrate –assisted catalysis التي يقوم بها Hex البشري (استقرار الشحنة الايجابية الناشئة على ذرة الآزوت في شاردة oxazolinium الوسطية وذلك خلال الهجوم المحب للنواة nucleophilic لذرة الأكسجين في N-acetomido oxygen على C1 في الركازة) [82].

تؤمن الحلقات العطرية لثمالات التربتوفان 373،392،460 في الوحيدة α، وثمالات التربتوفان 405،424،489 في الوحيدة β تأثيرات موجهة للركازة.

يساعد ربط الهيدروجين hydrogen bonding من ثمالة التيروزين 421 في الوحيدة α وثمالة التيروزين 450 في الوحيدة β على توجيه أكسجين الكاربونيل المحب للنواة، وعلى الحفاظ على استقرار شاردة الـ oxazolinium الوسطية. وتقوم هذه البيئة بحماية مركز الأسيل في شاردة الـ oxazolinium من الهجوم. وهي تقود جزيئة الماء الوافدة نحو الهجوم الصحيح في المصاوغ الكربونيلي anomer في الحالة المرحلية لإعطاء ناتج يمتلك تهايؤ بيتا صريح β net configuration [82]، كما هو موضح في الشكل 10.



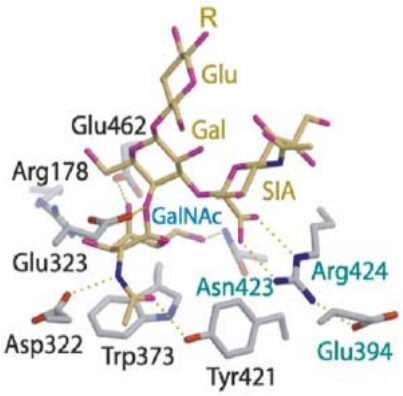
الشكل 10 :ألية التحفيز بمساعدة الركازة بواسطة إنزيم Hex البشري .

(عن Lemieux MJ,Mark BL,Cherney MM,Withers SG,Mahuran DJ,James MN.Crystallographic Structure of Human β-Hexosaminidase A:Interpretation of Tay-Sachs Mutations and Loss of GM2 Ganglioside Hydrolysis.J Mol Biol. 2006 ; (82).(359(4): 913–929

وعلى الرغم من احتواء الوحيدتين α و β على مقرات فعالة متشابهة، فإن المقر الفعال للوحيدة α يتكيف accommodate مع الركازات المشحونة سلبياً مثل GlcNAc-6-SO_4 الموجودة في كبريتات الكيراتان وحمض السياليك المرتبط بالغانغلوزيد G_{M2} [67].

إن HexA هو النظير الإنزيمي الوحيد القادر على حلمهة الغانغليوزيد GM2، وذلك بسبب وجود بنية عروية loop structure تشكلها متوالية الأحماض الأمينية في الوحيدة α والتي تغيب في الوحيدة β ، تتألف هذه البنية من الغليسين 280- سيرين281- غلوتامين 282- برولين 283، والتي تؤمن البنية المثالية للارتباط مع البروتين المفعل [82].

يحتوي الموقع الفعال في الوحيدة α أيضاً على ثمالة مفتاحية key residue هي ثمالة Arg424 وثمالة Asn423، تلعب ثمالة الأرجينين 424 (Arg424) الدور الرئيسي في ربط ثمالة N-acetyl-neuraminic acid الموجودة في الغانغليوزيدات G_{M2}، حيث تحافظ هذه الثمالة المشحونة ايجابياً على استقرار الشحنة السالبة لمجموعة الكربوكسيل في NANA عبر السكون الكهربائي electrostatic والتآثرات الرابطة للهيدروجين hydrogen-bonding interactions، أما ثمالة Asn423 فهي تساعد في توجيه ثمالة Arg424[82] وهذا موضح في الشكل 11.



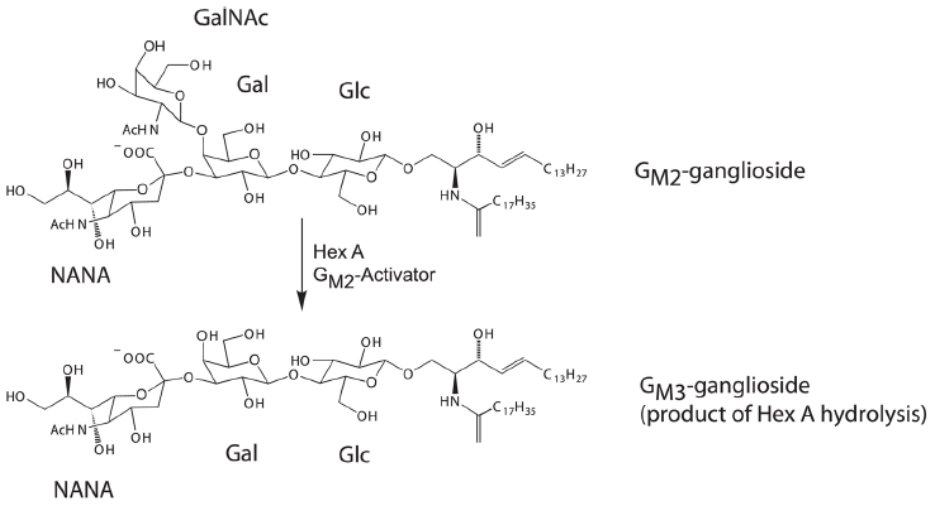
الشكل 11:ارتباط الغانغلوزيد GM2 مع الموقع الفعال للوحيدة α.

(عن Mark BL, Mahuran DJ, Cherney MM, Zhao D, Knapp S, James MN. Crystal Structure of Human β-Hexosaminidase B: Understanding the Molecular Basis of Sandhoff and Tay–Sachs Disease. J Mol Biol. 2003 :327 (5): 1093–1109).(67)

يحتوي الموقع الفعال في الوحيدة β على الثمالة Leu453 بدلاً من الثمالة Arg424، الموجودة في الوحيدة α. وكذلك يحتوي على الثمالة Asp452 بدلاً من الثمالة Asn423، وبالتالي الشحنة السالبة لمجموعة الكربوكسيل في NANA تتنافر مع الشحنة السالبة لمجموعة الكربوكسيلات في ثمالة Asp452، مما يمنع تشكل معقد منتج بين الجزيئتين[82].

2-5-3- دور البروتين المفعل

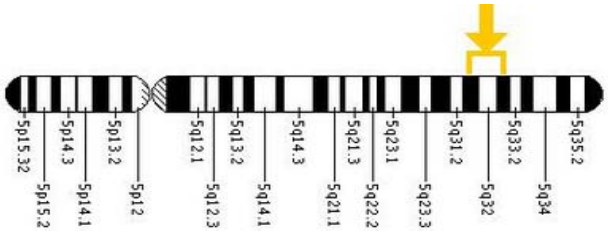
إن HexA هو الإنزيم الوحيد القادر على حلمهة الغانغليوزيد GM2 في الأحياء in vivo لإنتاج الغانغلوزيد GM3 وتتطلب هذه العملية وجود البروتين المفعل [81] (الشكل 12).



الشكل 12 : حلمهة الغانغلوزيد GM2 بواسطة إنزيم Hex A وفقدان ثمالة GalNAc لانتاج الغانغلوزيد GM3.

(عن Lemieux MJ, Mark BL, Cherney MM, Withers SG, Mahuran DJ , James MN .Crystallographic Structure of Human β-Hexosaminidase A:Interpretation of Tay-Sachs Mutations and Loss of GM2 Ganglioside Hydrolysis.J Mol Biol. 2006 : (82).(359(4): 913–929

البروتين المفعل لـ GM2 بروتين سكري صغير الوزن الجزيئي 22 KDa ثابت في درجات الحرارة المرتفعة، يتألف من مكثور وحيد monomer يضم 160 حمضاً أمينياً، ينتج عن التحلل البروتيني لجزيئة طليعية أكبر وزنها الجزيئي 24 KDa وذلك بعد فقدان 8 أو 9 أحماض أمينية من النهاية الأمينية في الجسيم الحال. يجري ترميزه من قبل الجين ***GM2A*** ، التي تبلغ 16kb من الطول و تحوي 4 exon و تتوضع على الصبغي 5 (33-32 q) [81] (الشكل 13).

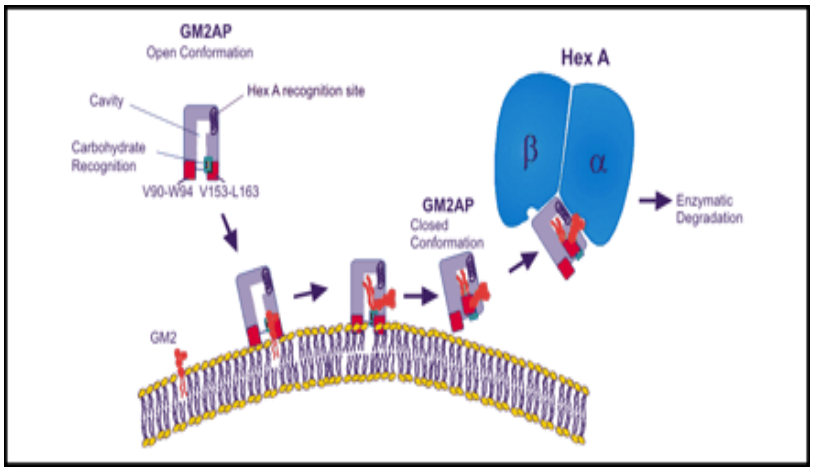


الشكل 13 : جين *GM2A*.

(عن US National Library of Medicine. (2008, September). Retrieved December 16, (86).(2013, (from Genetics Home References:http://ghr.nlm.nih.gov/gene=GM2A

يرتبط البروتين المفعل مع الغانغلوزيد G_{M2} بنسبة 1:1 ليشكل معقداً يرتبط مع الإنزيم لتجري عملية الحلمهة. ويحتوي البروتين المفعل على موقع نوعي يربط السكاكر، ويتعرف على كل من حمض السياليك وثمالة GalNAc، ولابد للمفعل من الارتباط بالجزء السيراميدي ليستخلص الغانغليوزيد من الغشاء [87].

في المختبر in vitro، يمكن للبروتين المفعل أن ينزع الغانغلوزيدات الموسومة من الجسيم الشحمي liposome ليدخلها في جسيم آخر، وبالتالي فإن البروتين المفعل لا يفعل الإنزيم HexA ، إنما ينقل الغانغلوزيد G_{M2} من الغشاء الداخلي للجسيم الحال ويشكل معه معقداً منحلاً. وبالتالي يعرض ثمالة GalNac النهائية على الإنزيم HexA الذي يقوم بدوره بحلمتها للحصول على الغانغليوزيد G_{M3} [87]. ويوضح الشكل 14 آلية تدرك الغانغلوزيد من قبل إنزيم HexA بوجود البروتين المفعل.



الشكل 14 : تدرك الغانغلوزيد من قبل إنزيم Hex A بوجود البروتين المفعل.

(عن Kolter T,Winau F,Schaible UE,Leippe M,Sandhoff K .Lipid-binding Proteins in Membrane Digestion, Antigen Presentation, and Antimicrobial Defense.J. Biol. Chem. 2005: 280:41125-41128.) (88)

يستطيع الإنزيم HexS حلمهة الغانغلوزيد G_{M2} بوجود منظف detergent عوضاً عن البروتين المفعل، في حين تبقى فعالية HexB منخفضة وتشكل 17% من فعالية الإنزيم HexA [87]. وهكذا فإن الوحيدة α تزود الإنزيم بالمقر الفعال لحلمهة G_{M2}، أما الوحيدة β فضرورية لضمان ارتباط المعقد G_{M2} - بروتين مفعل مع الإنزيم Hex A [67].

إن وظيفة المفعل هي التغلب على عدم قدرة الإنزيم HexA الذواب في الماء على حلمهة الثمالة الهدف β-GalNAc بسبب الاعاقة الفراغية، ويتبع ذلك عدم قدرة HexA على التعرف أو على الارتباط بأجزاء أخرى من جزيئة الغانغليوزيد [87].

6-2- توزع إنزيم N-أسيتيل بيتا -D -غلوكوزأمينيداز

إن لإنزيم N -أسيتيل بيتا -D -غلوكوز أمينيداز توزعاً واسعاً، حيث جرى الكشف عن وجوده في عدة أنسجة لدى أنواع مختلفة من الكائنات الحية. ويتواجد هذا الإنزيم في أنسجة الجرذ بكميات صغيرة في الخصية والرحم والطحال. وتزداد الكمية تدريجياً في اللمف والكبد واللفائفي لتتضاعف في الدرق والكلية والغدد تحت الفك العلوي ورأس البربخ لتصل الى أعلى المستويات في ذنب البربخ. وتبين في النسج البشرية وجود تراكيز متوسطة في الغضروف ومرتفعة في الغشاء المفصلي[89].

وجرى الكشف عن وجود إنزيم N -أسيتيل بيتا -D -غلوكوز أمينيداز في الكلى، حيث يتواجد بتراكيز مرتفعة في الجسيمات الحالة في النبيبات الكلوية الدانية، والتي تعتبر المكان المفضل لتوضعه لدى الكائنات الحية، ويفسر هذا التوضع الكبير دور هذا الجزء من الكليون في عود امتصاص البروتينات السكرية، ويتواجد أيضاً في قشر الكلية .

يعد النظيرA من مكونات الجزء الداخلي المنحل للجسيم الحال وهو يطرح في البول عبر آلية الايماس exocytose، بينما يكون النظير B مرتبطاً بغشاء الجسيم الحال ويطرح في البول خلال الأذية النبيبية الكلوية (68].

جرى قياس فعالية إنزيم N -أسيتيل بيتا -D -غلوكوز أمينيداز باستخدام طريقة الفلورة، في أجزاء تشريحية من الكبيبة G والنبيبات (النبيب الملفف الداني proximal convoluted tubule ، الجزء المستقيم pars recta، الطرف اللبي الصاعد الثخين medullary thick ascending limb، الأنبوب القشري الجامع cortical collecting tubule) لدى الأرنب.

كانت فعالية إنزيم N -أسيتيل بيتا -D -غلوكوز أمينيداز الكلية، المكونة بشكل رئيسي من النظير A منخفضة في الكبيبات، وكانت أعلى بمرتين ونصف إلى أربع مرات في النبيب الملفف الداني بالمقارنة مع الأجزاء الأخرى[90].

أما النظير B فقد كان متواجداً في أجزاء الكليون المدروسة جميعها، حيث مثل جزءاً مهماً من فعالية إنزيم N-أسيتيل بيتا -D -غلوكوز أمينيداز الكلية ماعدا في النبيب الملفف الداني، حيث

ازدادت فعاليته 20 - 30%. أي أن النسبة الأكبر لإنزيم N-أسيتيل بيتا -D -غلوكوز أمينيداز الكلي وكذلك للنظيرB تتواجد في النبيبات الدانية، بينما الأجزاء الأخرى للكليون تحوي نسبة أقل أهمية . وقد كشفت تقنية التبئير الكهربائي electrofocusing وجود كميات صغرية من النظير I في خلاصة القشرة وفي أجزاء الكليون المدروسة، وتبين أن هذا النظير مشتق من النظير A [90].

ومنه تتألف البيلة الإنزيمية لدى الانسان الطبيعي بشكل رئيسي من النظير A، على الرغم من وجود كلا النظيرين A و B في القشرة الكلوية بنسب متقاربة. وتترافق الأذية الكلوية بارتفاع مستويات إنزيم N-أسيتيل بيتا -D -غلوكوز أمينيداز في البول وبظهور النظير B [90،71].

واعتماداً على ماسبق يمكن القول أن إفراز النظير B في البول، بعد أذية كلوية، قد يعكس شدة الإصابة في النبيب الداني[90]. وبالتالي فإن أي أذية كلوية تسبب ضرراً في النبيبات الدانية تؤدي إلى تزايد اطراح إنزيم N -أسيتيل بيتا -D -غلوكوز أمينيداز الكلي، مع تزايد في نسبة النظير B في البول بسبب ارتفاع نسبته الملاحظة في النبيبات الدانية [91].

وفي حالة ازدياد البيلة الإنزيمية، نتيجة لتنخر خلايا لمعة النبيبات الدانية، فإن نسبة اطراح النظير B ستزداد أيضاً، مقارنة بالنسبة المطروحة منه في البول في الحالة الطبيعية [91،69].

2-7-ارتباط إنزيم N-أسيتيل -بيتا -D -غلوكوزامينيداز بالأمراض

2-7-1-أمراض الغانغلوزيد

تنبع أهمية إنزيم β-hexosaminidase، لدى البشر، من ارتباطه بمرض تاي -ساكس ومرض ساندوف، إذ ينشأ عن التراكم غير الطبيعي للغانغليوزيد G_{M2} اعتلالات خزن بدئي في الجسيمات الحالةprototypical lysosomal storage disorders .

تعد الأسس الجينية لهذه الأمراض معقدة، وذلك بسبب ضرورة ترميز 3 عديدات ببتيد مختلفة في الجسيم الحال من قبل 3 جينات مختلفة، ليجري الهدم الطبيعي للغانغليوزيد G_{M2}، وهي الوحيدة α والوحيدة β في HexA والبروتين المفعل لـ GM2 .

تؤدي الطفرات في هذه الجينات إلى ظهور أمراض الغانغليوزيد GM2، وهي مجموعة متشابهة سريرياً من الاعتلالات العصبية الوخيمة .

ينتج مرض تاي ساكس وتنوعاته عن العوز في فعالية HexA الناتج عن الطفرات في الجين المرمزة للوحيدة α ، وتكون فعالية HexB طبيعية أو مرتفعة .

يتميز مرض ساندوف وتنوعاته بعوز مشترك في فعالية كل من HexA وHexB بسبب الطفرة

في الجين المرمزة للوحيدة β المشتركة بين النظيرين الإنزيميين، بينما التنوع AB نادر الحدوث يحدث نتيجة لطفرات في الجين *GM2A* المرمزة للبروتين المفعل لـGM2 [92].

2-7-2- الأمراض الكلوية Renal disease

ترتفع فاعلية إنزيم N-أسيتيل بيتا-D غلوكوزأمينيداز البولية (NAGase) في العديد من الأمراض الكلوية، الأمراض الكلوية الثانوية الناتجة عن الداء السكري، ارتفاع الضغط والتهاب المفاصل الروماتويدي، الأدوية السامة كلوياً نتيجة الخلل الوظيفي النبيبي، وبالتالي إن ازدياد فاعلية الإنزيم تعكس عمق الأذية الكلوية والسعة الوظيفية المتبقية residual functional capacity [69].

إن مقايسة فاعلية إنزيم N-أسيتيل بيتا-D غلوكوزأمينيداز في البول لها أهميتها في الأمراض الكلوية التالية:

1. الجزر المثاني الحالبي vesicoureteric reflux

يعد إنزيم N-أسيتيل بيتا-D غلوكوزأمينيداز البولي مهماً في مراقبة الوظيفة الكلوية في حالة الجزر المثاني الحالبي[93].

2. التهاب الحويضة والكلية الحاد Acute pyelonephritis

ترتفع مستويات إنزيم N -أسيتيل بيتا-D غلوكوز أمينيداز البولية لدى الأطفال المصابين بالتهاب الحويضة والكلية الحاد [94،95].

3. القصور الكلوي المزمن Chronic renal insufficiency

وجد علاقة ايجابية بين القصور الكلوي المزمن ومستويات إنزيم N -أسيتيل بيتا-D -غلوكوز أمينيداز في بول 24 ساعة. وإن متابعة كميات الإنزيم المطروحة في عينة بول 24 ساعة تفيد في تحري مرضى القصور الكلوي المزمن[96].

4. الفشل الكلوي renal failure

ترتفع فاعلية إنزيم NAGase البولية لدى المصابين بدرجات مختلفة من الفشل الكلوي المزمن والمقدرة حسب شدة البيلة البروتينية، وبالتالي فإن قياس إفراز NAGase قد يكون مفيداً في وصف تطور المرض لدى مرضى الفشل الكلوي[71].

5. المتلازمة الكلائية لدى الأطفال nephritic syndrome

ترتفع مستويات NAGase البولية لدى مرضى المتلازمة الكلائية، ووجد أن الوظيفة الكبيبية

تكون طبيعية لدى الأطفال الكلائيين، وبالتالي فإن فعالية إنزيم NAGase المرتفعة تعكس تشارك خلل وظيفي نبيبي كلوي مع المتلازمة الكلائية [71].

6. الزرع الكلوي Renal transplantation

إن لمستويات NAGase الكلية وتبدلات نمط النظائر الإنزيمية أهمية كبرى كمؤشر مبكر للرفض rejection بعد زراعة الكلية [71].

2-7-3- السمية الكلوية للأدوية Renal toxicity of drug

1. الأمينوغليكوزيدات: وجد ارتفاع عابر في مستويات NAGase البولية لدى الأطفال وحديثي الولادة المعالجين بالأمينوغليكوزيدات. وعلى الرغم من أن الآلية الإمراضية للسمية الكلوية للأمينوغليكوزيدات غير معروفة فإن الهدف الأولي لهذه المضادات الحيوية هو الجسيمات الحالة في خلايا النيبيات القريبة [71].
2. المعالجة الكيميائية للسرطانات: دُرست السمية الكلوية للأدوية السرطانية، وجدت قيم مرتفعة لإنزيم NAGase لدى الأطفال المعالجين بالميتوتريكسات، كاربوبلاتين [97].

كذلك لوحظ ارتفاع فاعلية NAGase البولية لدى مريضات سرطان الثدي المعالجات بدواء anthracycline [98].

3. أدوية الصرع: لوحظ ارتفاع NAGase لدى الأطفال المصابين بالصرع والمعالجين بمعالجة وحيدة أو متعددة مع الكاربامازبين وحمض الفالبرويك [99].

2-7-4- السكري Diabetes Mellitus

ترتفع فعالية NAGase البولية لدى مرضى السكري النمط الأول، حيث يطرح واصم الأذية النبيبية NAGase بكميات كبيرة لدى مرضى السكري بوجود أو بغياب البيلة الألبومينية الصغرية .

توجد علاقة طردية بين مستويات NAGase ودرجة الاعتلال الكلوي nephropathy، وتغيب مثل هذه العلاقة مع اعتلال الشبكية retinopathy، كما يبدو أن الاعتلال الكلوي السكري المبكر يتشارك مع اطراح مرتفع لإنزيم NAGase البولي، حتى خلال المرحلة العكوسة من المرض. ومنه فمقايسة إنزيم NAGase لدى المصابين بالسكري من الأطفال واليافعين مهمة لتقييم وظيفة النبيبات الدانية [100-104].

تبين وجود علاقة ارتباط قوية بين الهيموغلوبين الغلوكوزي ومستويات NAGase البولية وبالتالي هناك علاقة بين ضبط السكري ومستويات NAGase [101،102].

كذلك استنتج المؤلفون أن NAGase مشعر مستقل للمضاعفات الكلوية لدى مرضى السكري من النمط الثاني[105،106].

2-7-5- ارتفاع الضغط Hypertension

ترتفع مستويات NAGase البولية لدى مرضى مشخصين حديثاً بارتفاع الضغط وغير المعالجين ولا يعانون من بيلة ألبومينية زهيدة، وكانت مستوياته مرتبطة عكسياً مع التصفية الكلوية، ومرتبطة طردياً مع قيم الضغط الانقباضي[107، 108].

2-7-6- التهاب المفاصل الروماتويدي Rheumatoid Arthritis

تبين ارتفاع مستويات اطراح NAGase في البول بشكل متواتر لدى المصابين بالتهاب المفاصل الروماتويدي المزمن[68].

2-7-7- الذئبة الحمامية الجهازية Systemic lupus erythematous

إن مستويات إنزيم NAGase البولية ترتفع بوضوح لدى المرضى المصابين بالتهاب الكلية الذئبي Lupus Nephritis بالمقارنة مع المصابين بالذئبة بدون التهاب الكلية [109]. ويمكن استخدامه في كشف التهاب الكلية الذئبي قبل حدوث الاعتلال الوظيفي النبيبي[110].

2-7-8- مقدمات الارتعاج Preeclampsia

تبين ارتفاع مستويات NAGase البولية لدى الحوامل المصابات بارتفاع ضغط الدم قبل الحمل، كما كانت هذه القيم أكثر ارتفاعاً لدى الحوامل اللواتي أصبن بارتفاع الضغط بسبب الحمل، حيث ارتفاع الضغط لدى الحوامل قد يسبب أذية نبيبية كلوية [111]

2-7-9- متلازمة الثلاسيمية Thalassemia syndrome

إن الأمراض الكلوية لم تشكل، تاريخياً، مشكلة كبرى لدى مرضى الثلاسيمية لأن فترة البقاء على قيد الحياة كانت محدودة، ومرتبطة بالتحميل المفرط بالحديد الناجم عن المعالجة المزمنة بنقل الدم، الأمر الذي يؤدي إلى الموت المبكر، كذلك، لم يعيش المرضى وقتاً كافياً لتطوير أمراض ترتبط بالاعتلالات الوظيفية الكلوية. ومع قدوم المعالجة الفعالة الخالبة للحديد التي خففت من عبء الحديد ونتائجه وأطالت من عمر مريض الثلاسيمية، أصبحت الأمراض الكلوية أكثر شيوعاً لدى هؤلاء المرضى [28]. يعد المرض الكلوي عامل اختطار مستقل لأحداث وعائية قلبية (السكتة والفشل القلبي والاحتشاء)، وهو يزيد من احتمالات الوفاة لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

من الضروري تقييم واصمات التخرب المبكر للنبيبات الدانية مثل NAG لدى هؤلاء المرضى لكشف الاعتلالات النبيبية بشكل مبكر ولمحاولة انقاص العبء الكلوي [29].

8-2 - الآلية الحيوية لارتفاع إنزيم N-أسيتيل بيتا - D-غلوكوزأمينيداز

لا تزال الآلية الكامنة وراء ارتفاع فاعلية NAGase في مختلف الأمراض الواردة أعلاه غير محددة تماماً، والآليات التي تلاقي قبولاً هي التي ترتبط بالشدة التأكسدية. فعلى سبيل المثال ترتفع قيم NAGase لدى مرضى السكري من النمط الأول قبل تطور الاعتلال الشبكي لديهم، لذلك يمكن اعتبار NAGase كمشعر للتبدلات الوعائية لدى مرضى السكري. ويضاف الى ذلك وجود علاقة ايجابية بين فاعلية NAGase وتراكيز المالونيل دي ألدهيد لدى مرضى السكري من النمط الأول، مما يدعم الرأي القائل بتأثير الشدة التأكسدية على فعالية NAGase.

يشير تناقص فاعلية NAGase عقب المعالجة بمضادات الأكسدة إلى دور الشدة التأكسدية في تحديد مستويات فعالية NAGase [68].

القســــــــــم العملـــــــي

1- هدف الدراسة Study Aim

هدفت هذه الدراسة إلى:

1. تقييم الوظيفة الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.
2. مقارنة مستويات إنزيم - N أسيتيل بيتا– D -غلوكوزامينيداز البولية بين الأشخاص الأسوياء ومرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.
3. دراسة إمكانية استخدام إنزيم - N أسيتيل بيتا– D -غلوكوزامينيداز كمؤشر لسوء الوظيفة الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.
4. تقييم تأثير المعالجة على الوظيفة الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

2- المواد والطرق Materials and Methods

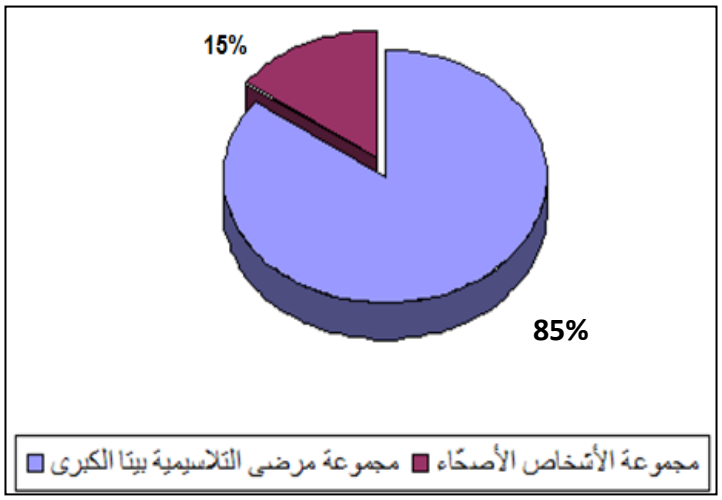
2-1- مجموعات الدراسة

شملت الدراسة 200 شخصاً وزعوا على النحو التالي:

A. المجموعة الشاهدة control group شملت 30 شخصاً صحيحاً (15%)

B. مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى شملت 170 مريضاً (85%)

ويوضح الشكل 1 توزع عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة.



الشكل 1 : النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة.

A- المجموعة الشاهدة

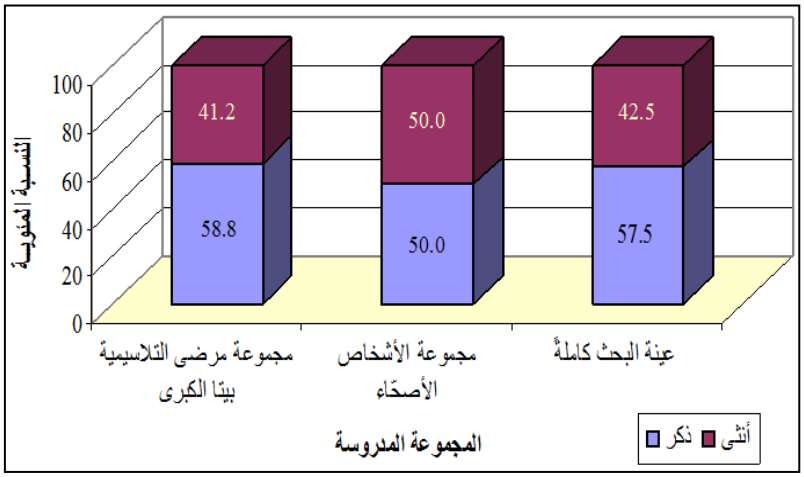
شملت هذه المجموعة 30 فرداً من طلاب المدارس الابتدائية والإعدادية والثانوية. وهم أصحاء ظاهرياً لديهم تاريخاً صحياً خالياً من أية شكوى لفقر دم صريح أو مرض دموي وراثي.

الفئة العمرية لهذه المجموعة متقاربة مع الفئة العمرية لمجموعة المرضى، حيث تراوحت أعمار هؤلاء الأفراد بين 4- 28 عاماً (المتوسط ± الانحراف المعياري: 13.9 ±6 عاماً). وبلغ عدد الذكور في هذه المجموعة 15(50%) و عدد الإناث 15(50%) بأعمار: 13.5 ± 6.9 و 14.2 ± 5.1 عاماً، على الترتيب.

B- مجموعة المرضى

بلغ عدد أفراد هذه المجموعة 170 مريضاً بالثلاسيمية بيتا الكبرى من المراجعين لمركز الثلاسيمية في مدينة دمشق. وتراوحت أعمار هؤلاء المرضى بين 4-28 عاماً (المتوسط ± الانحراف المعياري: 14 ± 5.4 عاماً). وكان عدد الذكور 100مريضاً (58.8%) وعدد الإناث 70 مريضة (41.2%) بأعمار: 14.5 ± 5.3 و 13.4 ± 5.5 عاماً، على الترتيب .

ويوضح الشكل 2 النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة وجنس المريض.



الشكل 2: النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة والجنس.

أخذت المعلومات من الأسوياء و المرضى بالاعتماد على بطاقة الاستبيان المبينة في الشكل 3.

دراسة دور N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيداز في كشف سوء الوظيفة الكلوية عند مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى

إعداد الصيدلانية :ديزي حموي

بإشراف :أ.د.فايزة القبيلي

الرقم:----------، التاريخ:----------

اسم المريض:----------،العمر:------- ،الجنس:----------، الوزن:---------،الطول:-------- ، الضغط:-------

عمر الإصابة بالمرض:---------- ، فترة الإصابة بالمرض:----------،القصة العائلية:--------- ، سن البلوغ:----------،

بدء نقل الدم :----------،عدد مرات نقل الدم بالسنة:------ ،الأدوية المستخدمة للمعالجة:----------، عمر بدء استخدام المعالجة

الدوائية:------- ،معالجات غير دوائية:----------، عمر بدء استخدام المعالجات غير الدوائية:--------- ، الأمراض الأخرى المترافقة مع التلاسيمية:----------الأدوية الاخرى:--------.

التحاليل المخبرية الروتينية:

الألبومين في البول:-----، الكرياتينين في المصل:-------- الكرياتينين في البول:---------،اليوريا في المصل:---------

الهيموغلوبين:------- ، أنزيم NAG----------، فيريتين المصل:----------

الشكل 3:استمارة البحث المستخدمة للحصول على المعطيات الخاصة بكل فرد من افراد الدراسة.

2-2 - الاعتيان Sampling

جرى الحصول على العينات من مراجعي مركز الثلاسيمية في مدينة دمشق من أجل نقل الدم الدوري والحصول على خالبات الحديد، في الفترة ما بين 1 /2011/12 و 2012/3/15.

كان الاعتيان على النحو التالي:

أُخذت عينات الدم بين الساعة 9-10 صباحاً بعد صيام ليلة كاملة، وقبل البدء بنقل الدم.

بزلت العينات بواسطة نظام vacutainer باستخدام أنابيب جافة، نبذت العينات بسرعة 4000 g لمدة عشر دقائق للحصول على المصل اللازم لإجراء المقايسات لكل من المتثابتات التالية:

الكرياتينين، اليوريا، الغلوكوز، الفيريتين.

وُزع المصل على ثلاثة أنابيب ايبندورف Eppendorf وحفظت في الدرجة -C80° إلى حين إجراء المقايسات للمتثابتات المدروسة.

استخدمت القسيمة الأولى لكل عينة لمقايسة الكرياتينين، اليوريا والغلوكوز، بينما إستخدمت القسيمة الثانية لمقايسة الفيريتين، بقيت القسيمة الثالثة قسيمة احتياطية.

أُخذت عينة بول صباحية قبل البدء بنقل الدم، وقد طلب من المرضى التخلص من الدفعة الأولى للبول الصباحي.

وزع 5 مل من البول الصباحي على ثلاثة أنابيب جافة في كل أنبوب 1-2مل بول حفظت في الدرجة - 20 °C إلى حين إجراء المقايسات للمتثابتات المدروسة لمدة اقصاها شهر.

استخدمت القسيمة الأولى لكل عينة لمقايسة الألبومين والكرياتينين، بينما إستخدمت القسيمة الثانية لمقايسة إنزيمNAG ، وبقيت القسيمة الثالثة قسيمة احتياطية.

2-3- الطرق المستخدمة

تمت مقايسة تراكيز الكرياتينين، اليوريا، الغلوكوز، الألبومين آلياً على جهاز هيتاشي 912، في مختبر الأسد الجامعي بدمشق باستخدام عتائد لشركة Roche الألمانية.

2-3-1- مقايسة الكرياتينين في البول والمصل

تمت مقايسة الكرياتينين في المصل وفي البول بطريقة 'Jaffe التي تعتمد مبدأ لوني حركي، إذ يتفاعل الكرياتينين مع الكاشف المستخدم (حمض البيكريك) في وسط قلوي ليعطي معقداً بلون برتقالي مصفر يملك قمة امتصاص أعظمية في موجة طولها 505 نم.

$$\text{Creatinine + picric acid} \xrightarrow{\text{Alkaline Solution}} \text{Creatinine- picric acid complex}$$

وتتناسب شدة اللون مع تركيز الكرياتينين في العينة.

الكواشف المستخدمة

الكاشف R1: هيدروكسيد الصوديوم	0.20 mol/l	NaOH
الكاشف R2: حمض البيكريك	25 mmol/l	picric acid

القيم السوية

البالغين: الرجال :0.7-1.2 مغ/دل

النساء: 0.5-0.9 مغ/دل

الأطفال: الخدج:0.24-0.85 مغ/دل

1-3 سنة:0.24-0.42 مغ/دل

ويتزايد مع تقدم العمر حتى يصبح في عمر 13-15 سنة :0.57-0.87 مغ/دل

2-3-2- مقايسة اليوريا

تعتمد الطريقة على مبدأ المقايسة الحركية في الأشعة فوق البنفسجية، إذ تتحلمه اليوريا بإنزيم اليورياز لتشكل أمونيا وثاني أكسيد الكربون.

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{urease}} 2NH_4^+ + CO_2$$

تتفاعل الأمونيا المتشكلة مع ألفا كيتوغلوتارات وNADH بوجود الغلوتامات ديهيدروجيناز لتعطي glutamate وNAD^+.

$$\alpha\text{-Ketoglutarate} + NH_4^+ + NADH \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L- glutamate} + NAD^+ + H_2O$$

حيث يقاس حركياً تناقص الامتصاص الناتج عن استهلاك الـ NADH بموجة طولها 340 نم.

الكواشف المستخدمة

الكاشف R1: دارئة / NADH

الكاشف R2: دارئة / α-Ketoglutarate /Urease, GLDH.

القيم السوية

10 -50 مغ/دل

2-3-3- مقايسة الغلوكوز

استخدمنا الطريقة الإنزيمية (Glucose /GOD-PAP) لمعايرة مستويات الغلوكوز في المصل.

حيث يجري تحديد مستويات الغلوكوز بطريقة إنزيمية لونية وفقاً التفاعلات التالية:

يتأكسد الغلوكوز بواسطة إنزيم غلوكوز أكسيداز إلى غلوكونولاكتون وماء أكسجيني:

$$\text{Glucose} + O_2 \xrightarrow{\text{Glucose oxidase (GOD)}} \text{gluconolactone} + H_2O_2$$

يشكل الماء الأكسجيني صباغاً أحمر بتفاعله مع الأمينوفينازون والفينول تحت تأثير الفعل التحفيزي لإنزيم البيروكسيداز :

$$2\ H_2O_2 + \text{4- aminophenazone} + \text{phenol} \xrightarrow{\text{peroxidase (pod)}} \text{4-(p-benzoquinone-monoiminon)-phenazone} + 4\ H_2O$$

يمكن قياس اللون الناتج بالمقياس الضوئي، حيث تتناسب شدة اللون الناتج طرداً مع تركيز الغلوكوز في العينة.

الكواشف المستخدمة

الكاشف R1: دارئة / GOD،POD /phenol ، 4- aminophenazone

القيم السوية

البالغين: 74-106 مغ/دل

الأطفال: 60 -100 مغ/دل

2-3-4- مقايسة الألبومين في البول

إستخدمنا طريقة Tina-quant Albumin لمعايرة مستويات الألبومين في البول. وهي تعتمد مبدأ المقايسة المناعية العكرية Immunoturbidimetric assay، حيث يتفاعل المستضد albumin الموجود في عينة البول مع أضداد Anti-albumin ليشكل معقداً (مستضد / ضد)، ثم يقاس العكر الناتج عن التراص.

حُسبت نسبة الألبومين إلى الكرياتينين في البول (Albumin:Creatinine ratio) مقدرة بـ (mg/g Cr) بتطبيق المعادلة التالية:

A:C ratio (mg/g)=Albumin (mg/dl)/ Creatinine (g/dl) ، وذلك لتعيين البيلة الألبومينية الزهيدة لدى أفراد الدراسة (A:C=30-299 mg/g).

الكواشف المستخدمة

الكاشف R1: دارئة

الكاشف R2: Anti - albumin anti bodies

القيم السوية

عينة بول صباحي: البالغين < 20 مغ ألبومين / غ كرياتينين.

الأطفال (3-5- سنوات):< 37 مغ ألبومين / غ كرياتينين.

عينة بول 24 ساعة: < 20 مغ / ل

< 30 مغ / 24 ساعة.

2-3-5- مقايسة فيريتين المصل

أجريت المقايسة باستخدام عتيدة Ferritin - EIA Kit لشركة Dia Metra الايطالية

هذه العتيدة مصممة لتحديد مستويات الفيريتين في المصل بالاعتماد على مبدأ المقايسة المناعية الإنزيمية اللونية Immunoenzymatic colorimetric assay، حيث يرتبط الفيريتين في العينات بشكل متزامن مع نوعين من الأضداد، أحد الأضداد مثبت مناعياً على آبار الصفيحة والضد الآخر موسوم ببيروكسيداز فجل الخيل (HRP) والذي يحفزمحلول الركازة TMB- substrate وتتناسب شدة اللون الأصفر الناتج بعد إضافة محلول الإيقاف (H_2SO_4) طردياً مع كمية الفيريتين الموجودة في محاليل المعياري أو العينات.

يمكن الحصول على منحنى معياري بتعيين الامتصاص للمحاليل المعيارية ذات التراكيز المعروفة وبالتالي يمكن تعيين التراكيز المجهولة للعينات بالاعتماد على هذا المنحنى المعياري.

مواد العتيدة

1-معياري الفيريتين Ferritin standard (التراكيز: 0- 5- 20- 100- 400- 1000 نغ/مل)

2- شاهد الفيريتين Ferritin control (1 vial)

3- صفيحة صغرية مغطاة بضد الفيريتين IgG

4- محلول غسل مركز 20X wash solution (50 ml)

5- محلول الركازة (TMB) substrate solution (15 ml)

6- محلول الإيقاف (Sulphuric acid) stop solution (15 ml)

7- محلول الاقتران conjugate (ضد الفيريتين الموسوم بالبيروكسيداز).

مواد وأجهزة مطلوبة غير مرفقة Material required but not supplied

1- قارئ صفيحة صغرية microplate reader قادر على قياس الامتصاص في موجة طولها 450nm.

2- غاسل صفيحة صغرية microplate washer (إذا كان الغاسل غير متوفر، يمكن قبول الغسل اليدوي).

3- ممصات دقيقة لإعطاء 20، 100، 300 مكرولتر.

إجراء المقايسة

1- تمديد محلول الغسيل (20X) بـ 950 مل ماء مقطر قبل الاستخدام.

2- يترك كل من الآبار A-1 وA-2 فارغاً ليكون بئراً ناصعاً Blank.

3- يضاف 20 ميكرولتر من الشاهد الإيجابي إلى البئرين H-1 وH-2.

4- يضاف 20 ميكرولتر من محاليل المعياري ابتداءاً من S_0 إلى S_5 إلى الآبار من C-1 وC-2 إلى G-1 وG-2.

ملاحظة : ينصح بالمقايسة المضاعفة لكل من المعيارات والشاهد الإيجابي.

5- يضاف 20 ميكرولتر من العينات المحضرة إلى الآبار المحددة.

6- يضاف 100 ميكرولتر من محلول الاقتران conjugate (ضد موسوم بالإنزيم) إلى كل بئر عدا الناصع.

7- تحضن الصفيحة مدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة (22-28 °C)، تطرح محتويات الآبار.

8- يغسل كل بئربـ 300 ميكرولتر من محلول الغسيل، يطرح محلول الغسيل وتقلب الصفيحة وتجفف على ورق نشاف، تكرر هذه العملية ثلاث مرات.

9- يضاف 100 ميكرولتر من محلول الركازة TMB المتوفرة في العتيدة إلى كل بئر.

10- تحضن الصفيحة مدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة (22-28 °C) في الظلام للحماية من الضوء.

11- يضاف 100 ميكرولتر من محلول الإيقاف إلى كل بئر من أجل إيقاف التفاعل، فيتبدل اللون من أزرق إلى أصفر.يتم قراءة الامتصاص عند موجة طولها 450 نم.

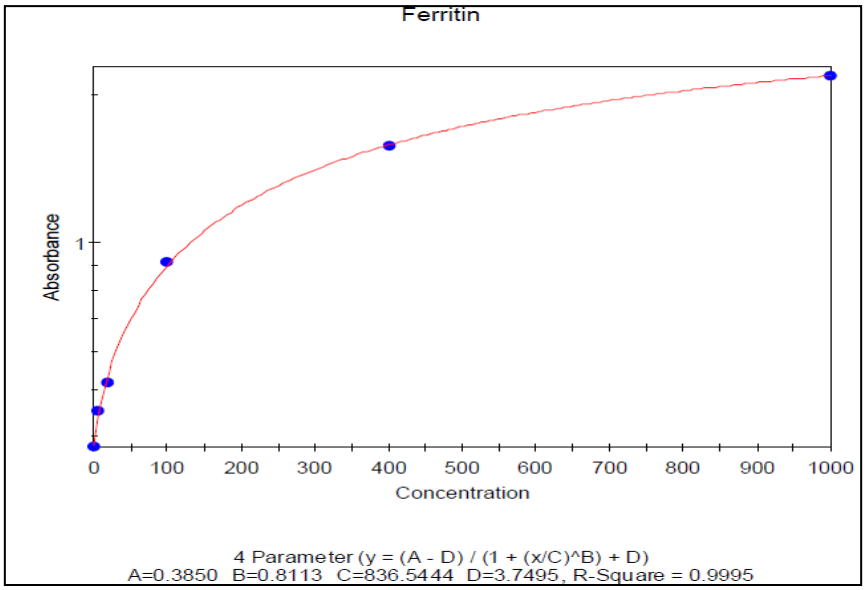
حساب النتائج

يرسم المنحني المعياري على ورقة بيانية، بتعيين التراكيز المعروفة للفيريتين المعياري على المحور X (X-axis). والامتصاصات الموافقة على المحور Y (Y-axis).

يظهر المنحنى المعياري ارتباطاً طردياً بين التراكيز والامتصاصات الموافقة، حيث تزداد شدة اللون الاصفر بازدياد تركيز المعياري وبالتالي تزداد الامتصاصية (الشكل 4).

ملاحظة

خفف تركيز عينات المرضى التي يزيد على 1000 نغ/ مل من محلول المعياري S_0 (0 نغ/مل) بنسبة تمديد 10.



الشكل 4: المنحني المعياري للفيريتين.

2-3-6- مقايسة إنزيم N - أسيتيل بيتا- D- غلوكوزأمينيداز في البول

أجريت المقايسة باستخدام عتيدة NAG Kit لشركة Roche الألمانية (Cat. No:10 001 875 406).

هذه العتيدة مصممة لتحديد مستويات فاعلية إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيداز (NAGase) في البول بالاعتماد على مبدأ المقايسة اللونية Colorimetric assay، حيث يتم إجراء المقايسة على البول.

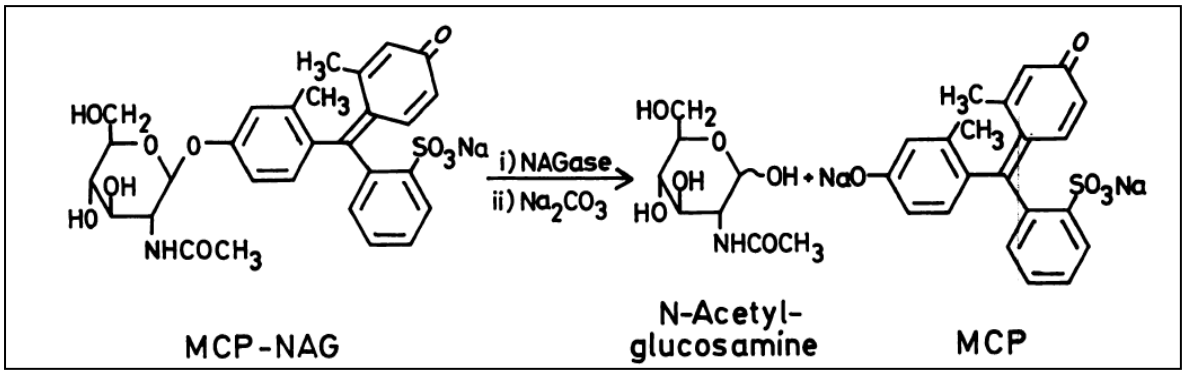
المبدأ Principle

يتحلمه الملح الصودي لـ 3- كريزول سلفون فتالئين - N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيد (**MCP-NAG**) بإنزيم N - أسيتيل بيتا- D- غلوكوز أمينيداز (NAGase) ليشكل 3- كريزول سلفون فتالئين (**MCP**) وN - **أسيتيل - غلوكوزأمين**. ويمكن قياس اللون الناتج بالمقياس الضوئي بموجة طولها 580 نم (الشكل 5).

شروط إجراء المقايسة

1- درجة الحرارة 37 °C

2- درجة pH حمضية (pH = 4.9)



الشكل 5: مبدأ مقايسة NAGase.

جمع النموذج و تخزينه Specimen collection and storage

تجرى المقايسة على عينة بول صباحي، ينبغي تنبيذ العينات الحاوية على عكر قبل إجراء المقايسة.

يفضل إجراء المقايسة بالسرعة الممكنة بعد الحصول على العينات أو تحفظ بين الدرجة - 15 و- 25 °C) و هي ثابتة مدة شهر.

ثبات العينة هو :أسبوع بالدرجة 8-2 °C وشهر بالدرجة من -15 إلى -25 °C.

مواد العتيدة Kit Materials

1- مادة الدارئة Buffer substance: citric acid، potassium citrate

2- ركازة مجفدة Lypophilized Substrate: 3 - كريزول سلفون فتالئين - N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيد (MCP-NAG) والبوراكس.

3- كاشف الإيقاف Stop reagent: كربونات الصوديوم.

ثبات الكواشف Reagent Stability

إن العبوات غير المفتوحة والمحفوظة في الدرجة 8-2 °Cتكون ثابتة حتى تاريخ انتهاء الفعالية المسجل عليها وتبقى هذه العبوات بعد فتحها وحفظها في الدرجة 8-2 °C ثابتة مدة شهر.

تحفظ الكواشف والمحاليل جميعها بعد تحضيرها بدرجة حرارة 8-2 °C، فهي صالحة لمدة شهر بعد إذابتها.

مواد مطلوبة غير مرفقة Material required but not supplied

1- إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيداز المعياري (standard) NAG standard لشركة روش الألمانية **(Cat. No:10 982 962 001).**

2- 5 عبوات من NAGase standard المجفد (3 ml).

3- الشاهد الإيجابي NAG control : positive control لشركة روش الألمانية Cat. No:11 164 368 001

4- 3عبوات من شاهد NAGase control المجفد (1ml).

الأجهزة المطلوبة

1- مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer.

2- حمام مائي thermostat water bath عند درجة الحرارة 37°C.

3- محافد Cuvettes (3ml)

خطوات العمل

تحضيرالمحاليل والكواشف Preparation of solutions and reagents

1- تذاب ركازة الدارئة باستخدام 55 مل ماء مقطر والمحلول الناتج هو محلول دارئة Buffer solution، يمزج جيداً ويترك حتى يذوب بشكل كامل (pH= 4.75).

2- تذاب الركازة المجفدة باستخدام 55 مل من محلول الدارئة والمحلول الناتج هو محلول الركازة Substrate solution، يمزج جيداً ويترك حتى يذوب بشكل كامل (pH= 4.9).

3- تذاب كربونات الصوديوم (مادة الإيقاف) باستخدام 110 مل ماء مقطر، والمحلول الناتج هو محلول الإيقاف Stop solution، يمزج جيداً ويترك حتى يذوب بشكل كامل (pH= 10.86).

4- الشاهد: تذاب المادة المجفدة باستخدام 1 مل ماء مقطر للعبوة الواحدة، يمزج جيداً ويترك مدة 5 دقائق على الأقل حتى يذوب بشكل كامل.

5- المعياري: تذاب المادة المجفدة باستخدام 3 مل ماء مقطر للعبوة الواحدة، يمزج جيداً ويترك مدة 5 دقائق على الأقل حتى يذوب بشكل كامل.

إجراء المقايسة Assay Procedure

1- يضاف 1 مل من محلول الركازة إلى كل من أنبوب العينة وأنبوب الناصع و يحضن في حمام مائي مدة 5 دقائق بدرجة حرارة 37 °C.

2- يضاف 0.05 مل من عينة البول المحضرة إلى أنبوبها المحدد ويمزج جيداً وتحضن في حمام مائي مدة ساعة بدرجة حرارة 37 °C.

3- يضاف 2 مل من محلول الإيقاف (محلول قلوي) إلى كل أنبوب من أجل إيقاف التفاعل، فيتبدل اللون إلى الاصفر تمزج الأنابيب وتترك مدة 10 دقائق، يتم قراءة الامتصاص مقابل الناصع في موجة طولها 580 نم .

حساب النتائج Calculation of results

تعطى تراكيز إنزيم N - أسيتيل بيتا- D - غلوكوز أمينيداز (NAGase) بالوحدة الدولية /لتر حيث كل 1 وحدة تحلمه 1 ميكرومول من الركازة بالدقيقة بدرجة حرارة 37 °C.

يجري تعيين قيم تراكيز الإنزيم الهدف في العينات المدروسة وفق القانون التالي :

$$\frac{1000 \times V}{40.67 \times 1 \times v \times t} \times A\ (sample)$$

امتصاص العينة بطول موجة 580 نم: A_{sample}

V : الحجم النهائي الموجود في المحفد بعد إضافة محلول الإيقاف مقدراً بالمل (V = 3.05)

نسبة التمديد: 1000

طول المحفد مقدراً بالـ سم :1

t : مدة الحضن مقدرة بالدقيقة (t= 15)

v : حجم عينة البول المضافة مقدراً بالمل (v=0.05)

معامل الامتصاص المولي للكريزول سلفون فتالئين 40.67

$$\textbf{Volume activity} = 100 \times A_{sample}\ (U/L)$$

يمكن تقسيم النتيجة على تركيز الكرياتينين في البول وبالتالي تعطى النتيجة النهائية (U/g).

التداخلات :

1- البيليروبين لا يحدث تداخل هام حتى تركيز 5 مغ / ل.

2- الهيموغلوبين لا يحدث تداخلات هامة.

3- الألبومين لا يسبب تداخلاً هاماً.

3- الدراسة الإحصائية Statistical Study

1- جرى التعبير عن القيم المختلفة إحصائياً بحساب المتوسط الحسابي والإنحراف المعياري ومجال القيم لكل مجموعة.

2- اعتمد اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في المتوسطات الحسابية في ما إذا كان الفارق جوهرياً وذو دلالة إحصائية أم أنه ناجم عن المصادفة.

3- جرى اعتماد قيمة p – value عند مستوى الدلالة 0.05 كحد للاعتداد بالقيمة إحصائياً:

P< 0.05 للاعتداد بالقيمة إحصائياً.

P<0.0001 للاعتداد الإحصائي ذو القيمة المرتفعة والفارق الجوهري الكبير.

4- الارتباط Correlation: لدراسة علاقة ارتباط بين المتثابتات المدروسة، حيث جرى اعتماد معامل بيرسون Pearson (r) وr>0.5 للاعتداد الإحصائي بوجود ارتباط جيد. ويزداد هذا الارتباط قوة كلما اقترب قيمة r من 1.

5- اعتمد اختبار كاي مربع لمعرفة إذا كان هنالك استقلالية أو ارتباط ما بين متغيرين مدروسين، وهو يعتمد على حساب نسبة تكرار حدوث ظاهرة ما في مجموعة أولى مقارنة بتكرارات حدوث الظاهرة نفسها في مجموعة أو مجموعات أخرى.

واستخدمت قيمة مستوى الدلالة P للإقرار في ما إذا كان المتغيران مستقلان أو مرتبطان، وقورنت قيمة P مع القيمة 0.05، فإذا كانت أصغر منها أو تساويها فإننا نقرر أن المتغيرين مرتبطان ببعضهما أونقرر وجود الفروق الدالة بين المجموعات المدروسة في التكرارات.

جرى اعتماد جداول التكرارات والنسب المئوية للحصول عن معلومات عن اتجاه وشدة العلاقة ولتقرير طبيعة الفروقات الحاصلة إن وجدت.

6- اعتمد منحنى ROC لدراسة احتمال أن تعبّر القيم المدروسة عن المتغير المدروس ويفيد أيضاً في تحديد النقطة الفاصلة المثلى التي يمكن اعتبار القيم عندها ممثلة أم لا.

مساحة المنطقة الواقعة تحت منحنى ROC عبارة عن قيمة تتراوح بين 0 و1:

عندما تساوي هذه القيمة 0.5 فذلك يعني أن لا علاقة للقيم المدروسة بالمتغير المدروس .

إذا كانت قريبة من القيمة 0 أو القيمة 1 فذلك يعني أن القيم تمثل المتغير التابع تمثيلاً صحيحاً وتختلف القيمة 0 عن القيمة 1 في حساسية القيم ونوعيتها.

4- النتائج Results

كان توزع قيم المتثابتات الكيمائية المدروسة جميعها لدى أفراد الدراسة قريباً من التوزع الطبيعي.

وجاءت النتائج على الشكل التالي:

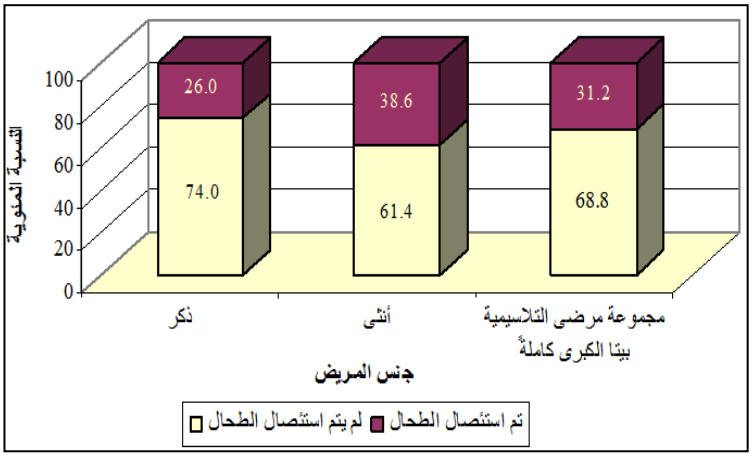
4-1- تعيين الخصائص السريرية لأفراد الدراسة

لقد جرى الحصول على عينات الدم والبول من أفراد المجموعة الشاهدة (30 شخصاً: 15 ذكراً و15 أنثى) بعد التأكد من عدم وجود فقر دم صريح لديهم، أو أي مرض وراثي دموي.

وبالنسبة لمجموعة المرضى (170 مريضاً: 100 ذكر و70 أنثى) من المصابين بالثلاسيمية بيتا الكبرى، بلغ عدد المرضى الذين استؤصل طحالهم 53 مريضاً (31.2%)، كان عدد الذكور 26 مريضاً (26%) وعدد الإناث 27 مريضة (38.6%). وبلغ عدد المرضى الذين لم يخضعوا لعملية استئصال الطحال 117 مريضاً (68.8%)، كان عدد الذكور 74 مريضاً (74%) وعدد الإناث 43 مريضة (61.4%).

كان المتوسط الحسابي لمدة استئصال الطحال بالأعوام في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى استأصلوا طحالهم من عينة البحث 9.6 عاماً والإنحراف المعياري 6.8 عاماً، لدى الذكور (8.7 ± 6.8 عاماً)، ولدى الإناث (10.4± 6.9 عاماً).

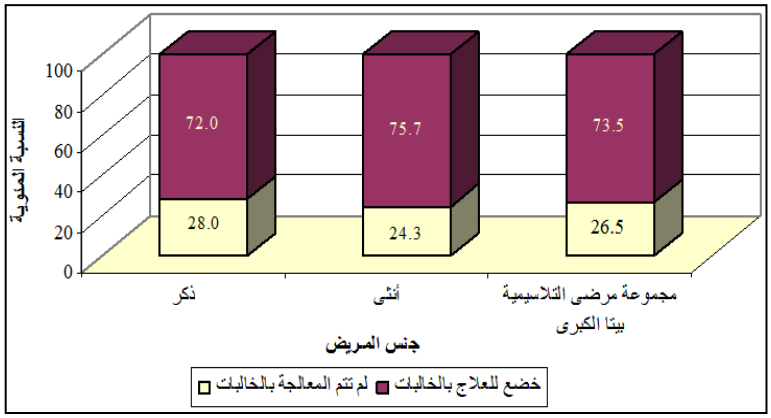
يوضح الشكل 6 النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن استئصال الطحال في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى من عينة البحث وفقاً لجنس المريض.



الشكل 6 : النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن استئصال الطحال في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى وفقاً لجنس المريض.

بلغ عدد المرضى الذين خضعوا للعلاج بخالبات الحديد بصورة منتظمة 125مريضاً (73.5%) كان عدد الذكور 72 مريضاً (72%) بينما عدد الإناث 53 مريضة (75.7%). في حين وجدنا 45 مريضاً (26.5%) لا يستخدم خالبات الحديد، كان عدد الذكور 28 مريضاً (28%) وعدد الإناث 17 مريضة (24.3%). كان المتوسط الحسابي لمدة العلاج بالخالبات بالأعوام في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين عولجوا بالخالبات من عينة البحث 8.5عاماً والإنحراف المعياري 3.6 عاماً، لدى الذكور (8.4 ± 3.5 عاماً)، ولدى الإناث (8.5 ± 3.8 عاماً).

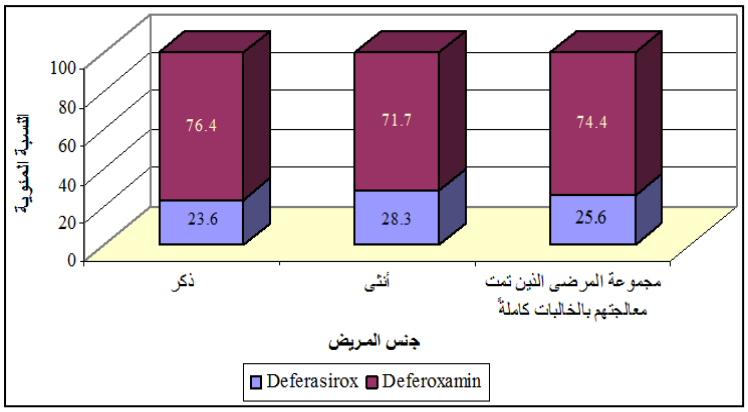
يوضح الشكل 7 النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن الخضوع للعلاج بالخالبات في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى وفقاً لجنس المريض.



الشكل 7: النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن المعالجة بالخالبات في مجموعة مرضى الثلاسيمية الكبرى من عينة البحث وفقاً لجنس المريض.

وجدنا في دراستنا نوعين من خالبات الحديد المستخدمة لدى مرضى الثلاسيمية الكبرى وهي Deferoxamin و Deferasirox. بلغ عدد المرضى المعالجين بالخالب Deferoxamin 93 مريضاً (74.4%)، عدد الذكور 55 مريضاً (76.4%) بينما عدد الإناث 38 مريضة (71.7%). وبلغ عدد المرضى المعالجين بالخالب Deferasirox 32 مريضاً (25.6%)، عدد الذكور 15 مريض (23.6%)، وعدد الإناث 17 مريضة (28.3%). يوضح الشكل 8 النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن نوع الخالب المستخدم في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين خضعوا للعلاج بالخالبات وفقاً لجنس المريض.

كان المتوسط الحسابي لمدة نقل الدم بالأعوام لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى 13.1 عاماً والإنحراف المعياري 5.3 عاماً، لدى الذكور (13.6 ± 5.2 عاماً) ، ولدى الإناث (12.4 ± 5.3 عاماً)

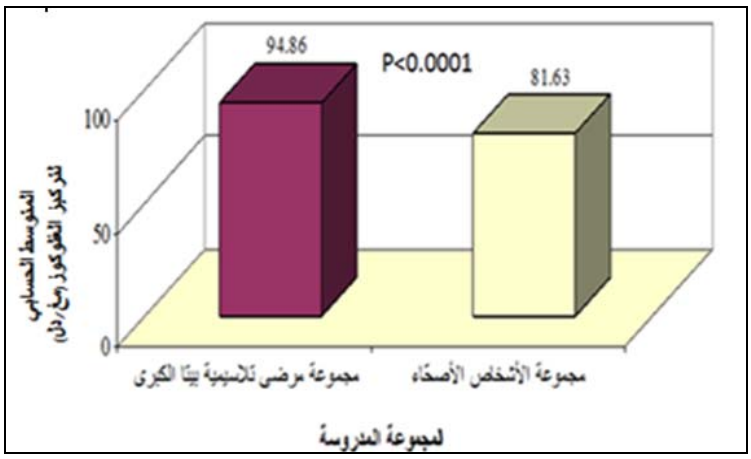


الشكل 8: النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن نوع الخالب المستخدم في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين خضعوا للعلاج بالخالبات وفقاً لجنس المريض.

4 - 2- تعيين قيم الغلوكوز الصيامي لدى أفراد الدراسة

تراوحت قيم الغلوكوز لدى المجموعة الشاهدة ضمن المجال 70- 89 مغ/دل وكان المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري :81.63 ± 5.51 مغ/دل.

تراوحت قيم الغلوكوز لدى مجموعة مرضى ضمن المجال 71- 123 مغ/دل وكان المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري: 94.86 ± 11.66 مغ /دل. نلاحظ أن تراكيز الغلوكوز الصيامي لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى كانت أعلى منها لدى مجموعة الأصحاء. بتطبيق اختبارTستودنت لوحظ أنP <0.0001 أي توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز الغلوكوز الصيامي بين مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى ومجموعة الأصحّاء (الشكل 9).



الشكل 9: المتوسط الحسابي لتراكيز الغلوكوز لدى مجموعات الدراسة.

لم يلاحظ وجود فارق يعتد به إحصائياً (p=0.061) في متوسط تراكيز الغلوكوز الصيامي بين المرضى الذكور والإناث.

4 - 3 - تعيين تراكيز الفيريتين لدى أفراد الدراسة

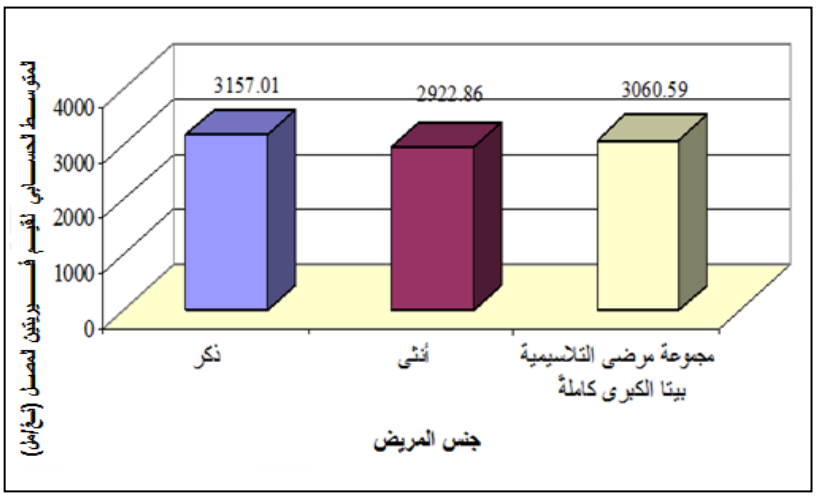
جرت مقايسة الفيريتين لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، كان المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري: 3060.59 ± 1005.03 نغ/مل. ومجال توزع القيم: 1230- 6600 نغ/مل.

بلغ المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لدى الذكور: 3157.01 ± 961.83 نغ/مل. ومجال توزع القيم :1230- 5864 نغ /مل.

بلغ المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لدى الإناث: 2922.86 ± 1055.42نغ/مل. ومجال توزع القيم : 1235 - 6600 نغ /مل.

كانت قيم فيريتين المصل ضمن المجال السوي لدى المجموعة الشاهدة، لدى الذكور 25-400 نغ/مل، ولدى الإناث 15-150 نغ/مل.

يوضح الشكل 10 المتوسط الحسابي لقيم الفيريتين في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى من عينة البحث وفقاً لجنس المريض.



الشكل 10 : المتوسط الحسابي لقيم الفيريتين في مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى وفقاً لجنس المريض.

4 -4 - تعيين قيم متثابتات الوظيفة الكلوية لدى أفراد الدراسة

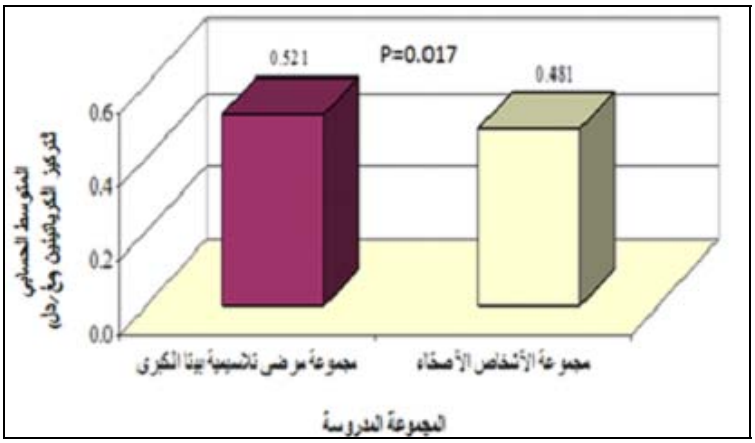
4 -4 - 1 - الكرياتينين

تراوحت قيم الكرياتينين لدى المجموعة الشاهدة ضمن المجال 0.40 -0.66 مغ/دل وكان المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري: 0.481 ± 0.06 مغ/دل.

تراوحت قيم الكرياتينين لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية ضمن المجال 0.40-0.87 مغ/دل وكان المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري: 0.521 ± 0.09 مغ/دل. ونلاحظ أن تراكيز الكرياتينين لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى كانت أعلى منها لدى مجموعة الأصحاء لكن بقيت القيم ضمن المجال السوي.

بتطبيق اختبار Tستودنت لوحظ أن P=0.017 أي توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز الكرياتينين بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى ومجموعة الأصحّاء (الشكل 11).

ولم يلاحظ وجود فارق يعتد به إحصائياً P=0.058 في متوسط تراكيز الكرياتينين بين المرضى الذكور والإناث.



الشكل 11: المتوسط الحسابي لتراكيز الكرياتينين لدى مجموعات الدراسة.

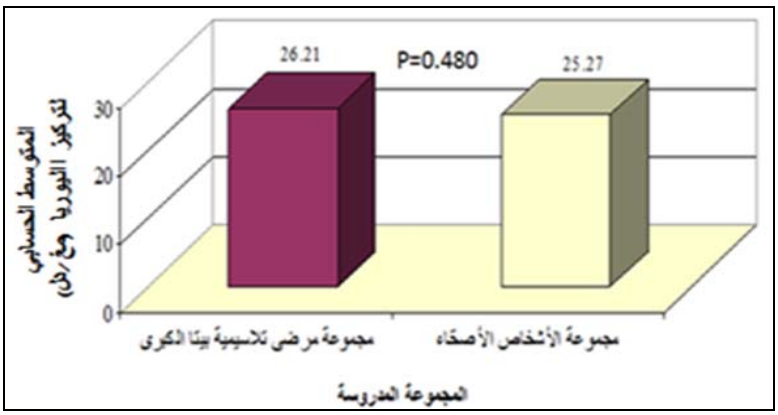
4 -4- 2 - اليوريا

تراوحت قيم اليوريا لدى المجموعة الشاهدة ضمن المجال 20 -31 مغ/دل وكان المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري:25.27 ± 3.22 مغ/دل.

تراوحت قيم اليوريا لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية ضمن المجال 11-52 مغ/دل وكان المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري: 26.21 ± 7.14 مغ /دل.

بتطبيق اختبارTستودنت نلاحظ أن P= 0.480 أي لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز اليوريا بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى ومجموعة الأصحّاء (الشكل 12).

لم يلاحظ وجود فارق يعتد به إحصائياً P=0.051 في متوسط تراكيز اليوريا بين المرضى الذكور والإناث.



الشكل 12 : المتوسط الحسابي لتراكيز اليوريا لدى مجموعات الدراسة.

4 -4- 3 - الألبومين في البول

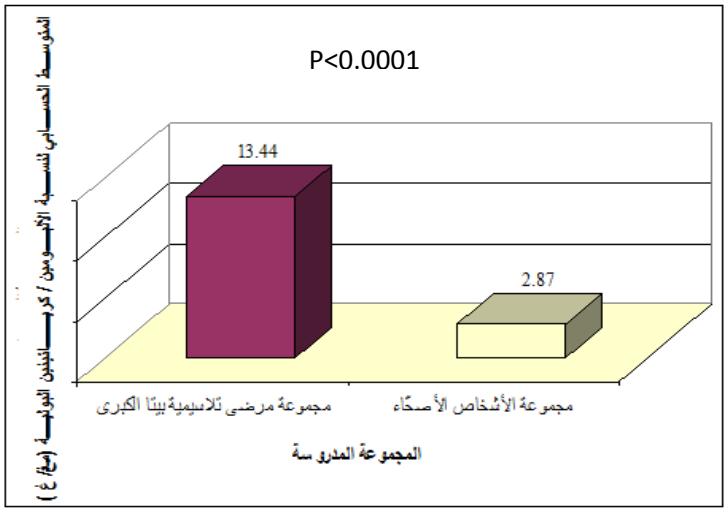
جرت مقايسة الألبومين في البول لدى 30 فرداً سوياً، فكان المتوسط الحسابي± الانحراف المعياري لنسبة الألبومين / كرياتينين البولية:2.87 ± 3.59 مغ ألبومين/غ كرياتينين. وكان مجال توزع القيم ضمن 0 - 9.8 مغ ألبومين /غ كرياتينن.

كما قيس الألبومين في البول لدى 170 مريض ثلاسيمية بيتا الكبرى، فكان المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لنسبة الألبومين/ كرياتينين البولية:13.44 ± 14.03مغ/غ كرياتينين. وكان مجال توزع القيم ضمن 0 - 49.2 مغ/غ كرياتينين.

وجد أن نسبة الألبومين/كرياتينين البولية (A/C ratio) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى كانت أعلى منها في مجموعة الأصحّاء.

بتطبيق اختبارTستودنت وجد أنP< 0.0001 أي أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط نسبة الألبومين/كرياتينين البولية بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى ومجموعة الأصحّاء (الشكل 13).

لم يلاحظ وجود فارق يعتد به إحصائياً P=0.468 في متوسط نسبة الألبومين/كرياتينين البولية بين المرضى الذكور والإناث.



الشكل 13: المتوسط الحسابي لمقدار الألبومين في البول لدى مجموعات الدراسة.

4 -4 -4- تعيين قيم إنزيم N - أسيتيل بيتا- D -غلوكوز أمينيداز لدى أفراد الدراسة

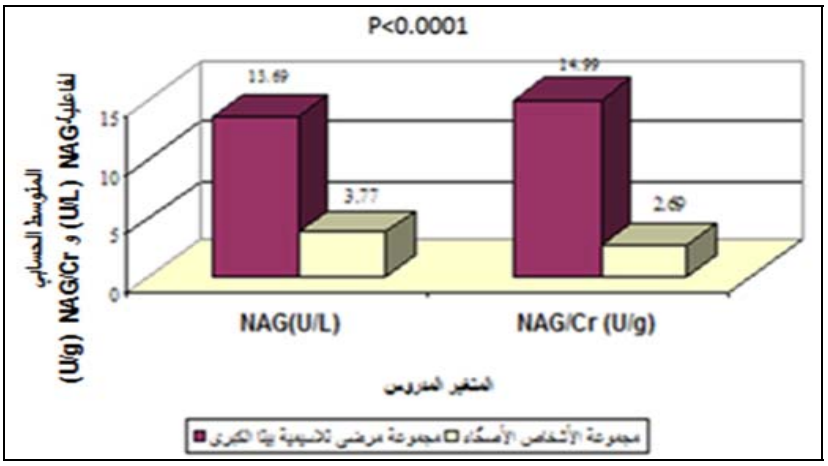
جرت مقايسة مستويات N - أسيتيل بيتا- D- غلوكوز أمينيداز البولية لدى 30 فرداً سوياً، كان المتوسط الحسابي ± الإنحراف المعياري :3.77 ± 1.86 U/L . وكان مجال توزع القيم ضمن 0.5 - 8.6 U/L.

عُينت قيم نسبة فاعلية إنزيم N-أسيتيل بيتا-D -غلوكوزأمينيداز/كرياتينين، فكان المتوسط الحسابي ± الإنحراف المعياري: 2.69± 1.17 U/g. ومجال توزع القيم ضمن 0.46-5.21 U/g.

جرت مقايسة مستويات إنزيم N - أسيتيل بيتا- D - غلوكوز أمينيداز البولية لدى 170 مريض ثلاسيمية بيتا الكبرى، فكان المتوسط الحسابي ±الإنحراف المعياري:13.69 ± 10.85 U/L، ومجال توزع القيم ضمن 0.6 - 46.67 U/L.

عُينت قيم نسبة فاعلية إنزيم N-أسيتيل بيتا- D- غلوكوزأمينيداز/كرياتينين، فكام المتوسط الحسابي ± الإنحراف المعياري : 14.99± 9.73 U/g. ومجال توزع القيم :1.2-52.13 U/g.

نلاحظ أن المستويات البولية لإنزيم N - أسيتيل بيتا- D -غلوكوزأمينيداز وكذلك نسبة فاعلية إنزيم N - أسيتيل بيتا- D -غلوكوزأمينيداز/كرياتينين أعلى بوضوح لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى منها لدى مجموعة الأصحاء. بتطبيق اختبارT ستودنت كانت P<0.0001، أي أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط كل من فاعلية NAG وNAG/Cr بين مجموعة مرضى الثلاسمية بيتا الكبرى والمجموعة الشاهدة (الشكل 14).



الشكل 14: المتوسط الحسابي لفاعلية NAG وNAG/Cr لدى مجموعات الدراسة.

لم يلاحظ وجود فارق يعتد به إحصائياً P=0.174 في متوسط فاعلية إنزيم N - أسيتيل بيتا- D- غلوكوزأمينيداز بين المرضى الذكور والإناث.

4-5- تقييم تأثير الجنس على تراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة المرضى

إجري اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط كل من المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية (اليوريا، الغلوكوز الصيامي، الكرياتينين، الألبومين في البول، NAG) بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى في عينة البحث.

وتبين أن قيمة P أكبر من القيمة 0.05، مهما كان المتغير المدروس، ومنه لا توجد فروق يعتد بها إحصائياً بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث. ولا تأثير للجنس على قيم المتغيرات المرتبطة بالوظيفة الكلوية .

4 - 6 - تقييم العلاقة بين عمر المريض وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة المرضى

4 -6 -1- تقييم العلاقة بين تركيز اليوريا وعمر المريض

بدراسة العلاقة بين العمر وتركيز اليوريا لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ أنP =0.905، وr=0.009 أي أنه لا توجد علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً بين عمر المريض (بالأعوام) وتركيز اليوريا (مغ/دل).

4 -6 -2- تقييم العلاقة بين تركيزالكرياتينين وعمر المريض

بدراسة العلاقة بين عمر المريض (بالأعوام) وتركيز الكرياتينين (مغ/دل) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170)، لوحظ وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً. وكانت هذه العلاقة طردية ضعيفة الشدة ويمكن اهمالها (P=0.021،r=0.392)، حيث كانت قيمة معامل الارتباط بيرسون قريبة من القيمة 0.4.

4 -6 -3- تقييم العلاقة بين نسبة الألبومين/كرياتينين البولية وعمر المريض

بدراسة العلاقة بين عمر المريض (بالأعوام) ومقدار الألبومين في البول (مغ ألبومين/غ كرياتينين) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170)، لوحظ وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً. وكانت هذه العلاقة طردية متوسطة الشدة (P<0.0001، r=0.586)، حيث كانت قيمة معامل الارتباط قريبة من القيمة 0.6.

4 -6 -4- تقييم العلاقة بين تركيز الغلوكوز وعمر المريض

بدراسة العلاقة بين عمر المريض (بالأعوام) وتركيز الغلوكوز (مغ/دل) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170)، لوحظ وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً. وكانت هذه العلاقة طردية ضعيفة الشدة ويمكن اهمالها (P<0.0001 ،r=0.392)، حيث كانت قيمة معامل الارتباط قريبة من القيمة 0.4.

4 -6 -5- تقييم العلاقة بين فاعلية NAG وعمر المريض

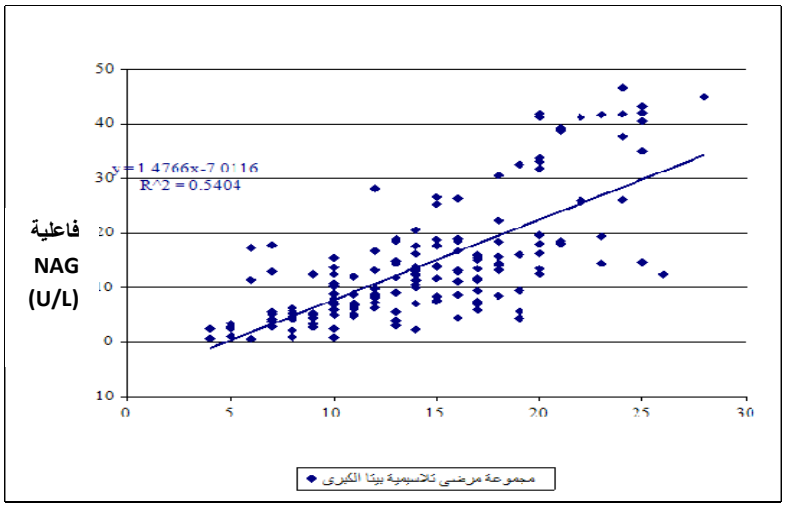
بدراسة العلاقة بين عمر المريض (بالأعوام) وفاعلية NAG (وحدة دولية / لتر) لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى (n=170)، لوحظ وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً. وكانت هذه العلاقة طردية قوية الشدة (P<0.0001 ،r=0.735)، حيث كانت قيمة معامل الارتباط قريبة من القيمة 0.7 .

بدراسة العلاقة بين عمر المريض (بالأعوام) ونسبة NAG/Cr (U/g) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (170) لوحظ وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً. وكانت هذه العلاقة طردية متوسطة الشدة (p<0.0001،r=0.628)، حيث قيمة كانت معامل الارتباط قريبة من القيمة 0.6.

ويبين الجدول 1 نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين عمر المريض (بالأعوام) وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

الجدول 1 : نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين عمر المريض وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

شدة العلاقة	جهة العلاقة	أهمية العلاقة إحصائياً	المتغير الأول = عمر المريض			المجموعة المدروسة	المتغير الثاني
			قيمة مستوى الدلالة	قيمة معامل الارتباط	عدد الأفراد		
-	-	غير معتد بها إحصائياً	0.905	0.009	170	مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	تركيز اليوريا (مغ/دل)
ضعيفة	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.000	0.392	170	مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	تركيز الغلوكوز الصيامي (مغ/دل)
ضعيفة	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.021	0.177	170	مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	تركيز الكرياتينين (مغ/دل)
متوسطة	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.000	0.586	170	مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	نسبة الألبومين/ كرياتينين البولية (مغ/غ)
قوية	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.000	0.735	170	مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	NAG (U/L)
ضعيفة	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.000	0.628	170	مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	NAG /Cr(u/g)



الشكل 15:العلاقة بين فاعلية NAG وعمر المريض.

4 -7 - تقييم تأثير المعالجة على تراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية في مجموعة المرضى

بغية التعرف على أثر التدابير العلاجية للثلاسيمية بيتا على الوظيفة الكلوية قمنا بمقارنة تراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية بين مجموعات مرضى ثلاسيمية خضعوا لتدابير علاجية مختلفة، حيث جرت دراسة:

4-7 -1 - تأثير المعالجة بنقل الدم

جرى حساب معامل الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة المعالجة بنقل الدم (بالأعوام) وتراكيزالمتثابتات المدروسة (الكرياتينين، الغلوكوز، اليوريا، نسبة الألبومين/كرياتينين البولية، NAG) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

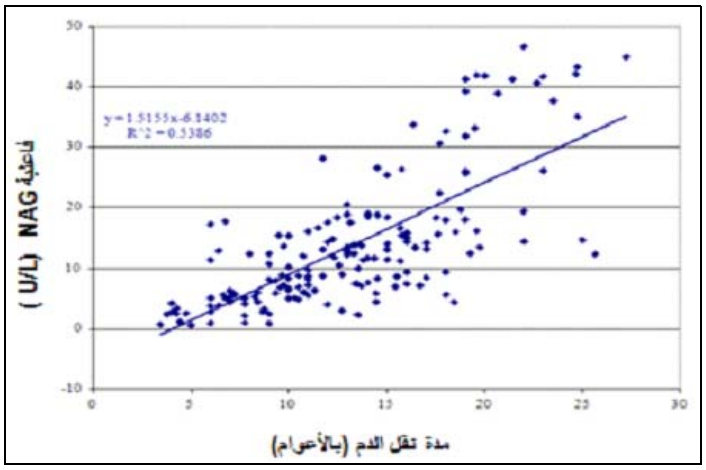
يبين الجدول 2 وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً بين مدة المعالجة بنقل الدم (بالأعوام) وتركيزالكرياتينين (مغ /دل) ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية (مغ/غ)، حيث كانت قيمة P هي 0.0001،0.012 على الترتيب، وكانت هذه العلاقة طردية ضعيفة الشدة ويمكن اهمالها بالنسبة للكرياتينين، حيث r = 0.193، بينما كانت العلاقة متوسطة الشدة بالنسبة للألبومين/كرياتينين، حيث r = 0.578.

أما بالنسبة لليوريا والغلوكوز فلم يلاحظ وجود علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً بين مدة المعالجة بنقل الدم (بالاعوام) وتراكيزاليوريا (مغ/دل)، حيث (r=0.036، P=0.638)، وبين مدة المعالجة بنقل الدم وتراكيز الغلوكوز (مغ/دل)، حيث (r=0.21 ، P=0.570).

وبدراسة العلاقة بين مدة المعالجة بنقل الدم (بالأعوام) وفاعلية NAG (وحدة دولية / لتر) لوحظ وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً. وكانت هذه العلاقة طردية قوية الشدة (r=0.734، P<0.0001) (الشكل 16).

الجدول2: نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة المعالجة بنقل الدم (بالأعوام) وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى .

شدة العلاقة	جهة العلاقة	أهمية العلاقة إحصائياً	المتغير الأول = مدة نقل الدم			المتغير الثاني	المجموعة المدروسة
			قيمة مستوى الدلالة	قيمة معامل الارتباط	عدد الأفراد		
-	-	غير معتد بها	0.638	0.036	170	تركيز اليوريا (مغ/دل)	مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى
-	-	غير معتد بها	0.570	0.021	170	تركيز الغلوكوز الصيامي (مغ/دل)	
ضعيفة	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.012	0.193	170	تركيز الكرياتينين (مغ / دل)	
متوسطة	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.0001	0.578	170	مقدار الألبومين في البول (مغ ألبومين /غ كرياتينين)	
قوية	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.0001	0.734	170	فاعلية NAG (وحدة دولية / لتر)	
قوية	طردية	**معتد بها إحصائياً**	0.0001	0.681	170	NAG/Cr (U/g)	



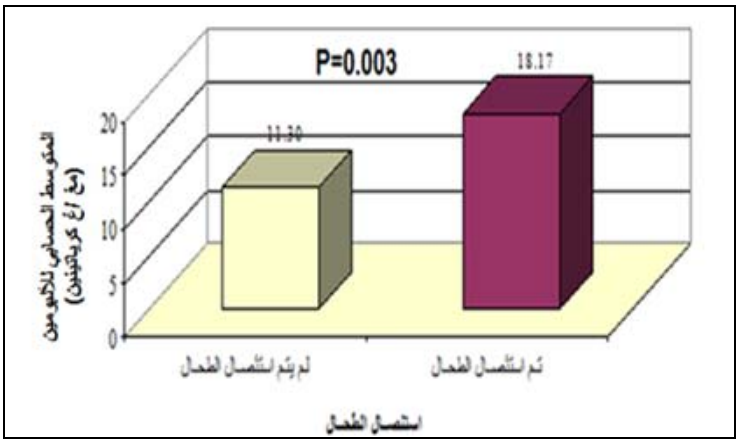
الشكل 16: العلاقة بين فاعلية NAG ومدة المعالجة بنقل الدم لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

4 - 7- 2- تأثير استئصال الطحال

لدى مقارنة تراكيز المتثابتات المدروسة بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الذين استؤصل طحالهم (53 مريضاً) ومجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الذين لم يستأصل طحالهم (117مريضاً)، وبتطبيق اختبار Tستودنت لم نجد فروقاً يعتد بها إحصائياً بين المجموعتين، عدا :

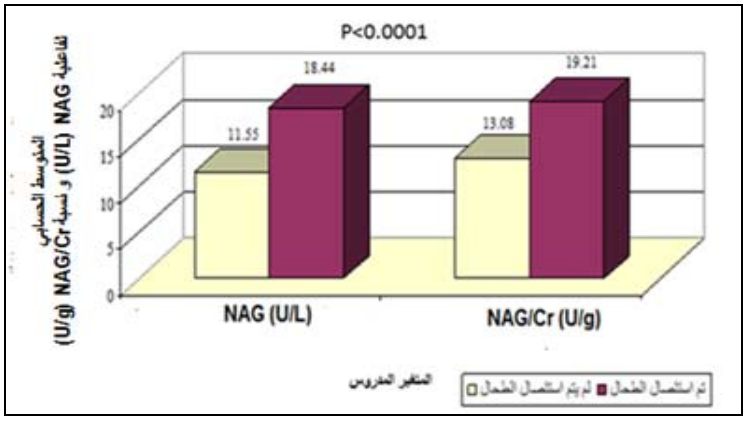
نسبة الألبومين/كرياتينين البولية حيث كانت القيم 11.30 ±13.21 و18.17 ±14.73 مغ /غ لدى المرضى غير مستأصلي الطحال والمستأصلي الطحال، على الترتيب.

وبتطبيق اختبار Tستودنت كانت P=0.003، أي يوجد فرق يعتد به احصائياً (الشكل17).



الشكل17: المتوسط الحسابي لنسبة الألبومين/كرياتينين البولية (مغ ألبومين /غ كرياتينين) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لاستئصال الطحال.

NAG، حيث كانت القيم 11.55± 9.16 و 18.44 ± 12.75 (وحدة دولية /لتر)، لدى المرضى غير مستأصلي الطحال والمستأصلي الطحال، على الترتيب. وبتطبيق اختبار T ستودنت كانت P< 0.0001 وبالتالي هنالك فرق يعتد به احصائياً (الشكل 18).



الشكل 18:المتوسط الحسابي لفاعلية NAG ونسبة NAG/Cr لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لاستئصال الطحال.

ويلخص الجدول 3 نتائج مقارنة المتثابتات المدروسة، بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الذين استؤصل طحالهم ومجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الذين لم يستأصل طحالهم.

الجدول 3: نتائج مقارنة تراكيز المتثابتات المدروسة (المتوسط ± الانحراف المعياري) بين مجموعة المرضى المستأصل طحالهم ومجموعة المرضى غير المستأصل طحالهم.

المتثابتة	مرضى الذين لم يستأصل طحالهم n= 117	المرضى المستأصل طحالهم n= 53	قيمة p
الكرياتينين (مغ/دل)	0.09 ± 0.520	0.09 ± 0.523	0.828
الغلوكوز (مغ/دل)	11.47 ± 93.71	11.79 ± 97.40	0.056
اليوريا (مغ/دل)	7.14 ± 25.87	7.15 ± 26.94	0.366
نسبة الألبومين/كرياتينين (مغ /غ)	13.21± 11.30	14.73 ± 18.17	0.003
NAG (وحدة دولية/لتر)	9.16 ±11.55	12.75 ± 18.44	0.0001
NAG/Cr (U/g)	8.16± 13.08	11.52 ± 19.21	0.0001

نلاحظ لدى دراسة العلاقة بين مدة استئصال الطحال (بالأعوام) وتراكيز المتثابتات المدروسة، لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين استأصل طحالهم، عدم وجود علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً بين مدة استئصال الطحال والمتثابتات المدروسة عدا:

نسبة الألبومين/كرياتينين البولية ، حيث كانت هنالك علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً، وهي علاقة طردية ضعيفة الشدة يمكن اهمالها (r=0.298 ، P=0.03).

ويوضح الجدول 4 نتائج حساب معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة استئصال الطحال وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى .

الجدول 4: نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة استئصال الطحال وقيم كل من المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

المجموعة المدروسة	المتغير الثاني	المتغير الأول = مدة استئصال الطحال			أهمية العلاقة إحصائياً	جهة العلاقة	شدة العلاقة
		عدد الأفراد	قيمة معامل الارتباط	قيمة مستوى الدلالة			
مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى الذين استأصل طحالهم	تركيز اليوريا (مغ / دل)	53	-0.233	0.092	غير معتد بها	-	-
	تركيز الغلوكوز الصيامي (مغ / دل)	53	0.017	0.905	غير معتد بها	-	-
	تركيز الكرياتينين (مغ / دل)	53	0.117	0.406	غير معتد بها	-	-
	نسبة الألبومين/كرياتينين البولية (مغ /غ)	53	0.298	0.030	**معتد بها**	طردية	ضعيفة
	فاعليةNAG (وحدة دولية /لتر)	53	0.118	0.402	غير معتد بها	-	-
	NAG/Cr (U/g)	53	0.247	0.074	غير معتد بها	-	-

4- 7 - 3 - تأثير المعالجة بخالبات الحديد

صادفنا خلال دراستنا 45 مريضاً فقط لا يأخذون خالبات الحديد بينما، بقية المرضى (125 مريض) كانوا يأخذون خالبات الحديد. وبمقارنة تراكيز المتثابتات الكيميائية الحيوية المدروسة بين المجموعتين وبتطبيق اختبارTستودنت لم يلاحظ وجود فروق يعتد بها إحصائياً بين المجموعة التي لا تأخذ خالبات الحديد والمجموعة التي تأخذ الخالبات. ويلخص الجدول 5 نتائج مقارنة المتثابتات المدروسة بين مجموعتي مرضى التي لا تأخذ خالبات الحديد أو التي تأخذها.

الجدول 5:نتائج مقارنة تراكيز المتثابتات الكيميائية (المتوسط ± الانحراف المعياري) بين مجموعة مرضى نأخذ خالبات الحديد ومجموعة مرضى لا تاخذها.

المتثابتة	مرضى لا تأخذ خالبات n= 45	مرضى تأخذ خالبات n= 125	قيمة p
الكرياتينين (مغ/دل)	0.08 ± 0.518	0.09 ± 0.522	0.773
الغلوكوز (مغ/دل)	9.52 ± 93.96	12.36 ± 95.18	0.546
اليوريا (مغ/دل)	3.16 ± 25.26	7.11 ± 26.20	0.245
نسبة الألبومين/كرياتينين (مغ/غ)	12.33± 11.69	14.59 ± 14.07	0.331
NAG (وحدة دولية/لتر)	8.23 ±11.88	11.61 ± 14.35	0.191
NAG/Cr (U/g)	7.82 ± 14.10	10.34± 15.31	0.475

بدراسة العلاقة بين مدة المعالجة بالخالبات (الأعوام) وقيم المتثابتات المدروسة لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى المعالجين بخالبات الحديد من عينة البحث، تبين عدم وجود علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً بين مدة المعالجة بالخالبات والمتثابتات المدروسة عدا :

نسبة الألبومين /كرياتينين البولية، حيث كانت هنالك علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً، وهي علاقة طردية ضعيفة يمكن اهمالها (r=0.417 ، P<0.0001).

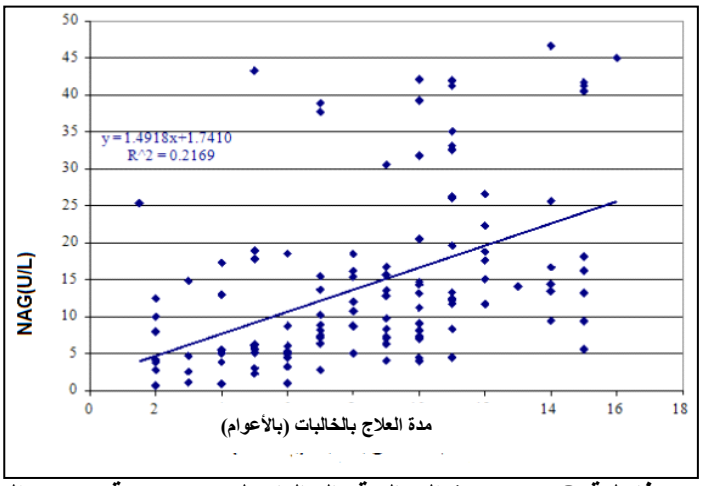
فاعلية NAG ، حيث كانت هنالك علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً، وهي علاقة طردية متوسطة الشدة (r=0.466، P<0.0001) (الشكل 19).

يوضح الجدول 6 نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة

المعالجة بالخالبات (بالأعوام) وقيم كل من المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى .

الجدول 6: نتائج حساب قيم معاملات الارتباط بيرسون لدراسة طبيعة العلاقة بين مدة العلاج بالخالبات وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى.

المجموعة المدروسة	المتغير الثاني	المتغير الأول = مدة المعالجة بالخالبات			أهمية العلاقة إحصائياً	جهة العلاقة	شدة العلاقة
		عدد الأفراد	قيمة معامل الارتباط	قيمة مستوى الدلالة			
مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا المعالجين بالخالبات	تركيز اليوريا (مغ / دل)	125	-0.074	0.409	غير معتد بها	-	-
	تركيز الغلوكوز الصيامي (مغ / دل)	125	0.182	0.509	غير معتد بها	-	-
	تركيز الكرياتينين (مغ / دل)	125	0.109	0.226	غير معتد بها	-	-
	نسبة الألبومين /كرياتينين (مغ ألبومين /غ كرياتينين)	125	0.417	0.0001	**معتد بها**	طردية	ضعيفة
	فاعلية NAG (وحدة دولية /لتر)	125	0.466	0.0001	**معتد بها**	طردية	متوسطة
	NAG/Cr (U/g)	125	0.433	0.0001	**معتد بها**	طردية	ضعيفة



الشكل 19: العلاقة بين فاعلية NAG ومدة المعالجة بالخالبات لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى الذين عولجوا بالخالبات .

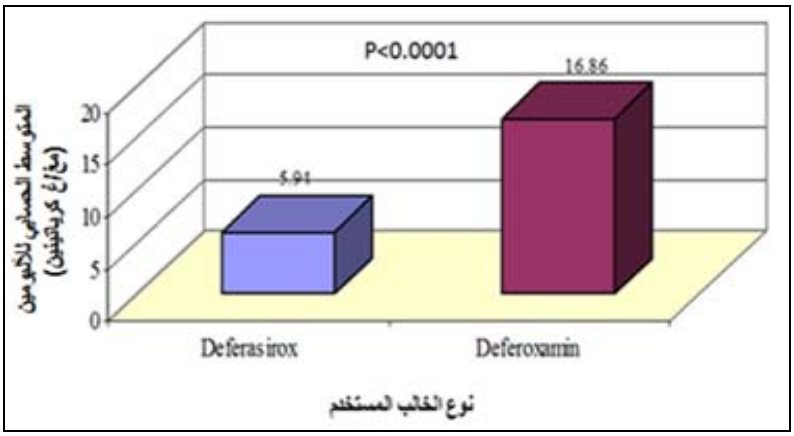
4- 7 - 4 - تأثير نوع الخالب المستخدم في المعالجة

صادفنا خلال دراستنا نوعين من الخالبات المستخدمة في المعالجة: الأول Deferoxamin يعطى تسريب تحت الجلد والثاني Deferasirox يعطى فموياً.

وبمقارنة تراكيز المتثابتات المدروسة بين المجموعتين وبتطبيق اختبارTستودنت لم يلاحظ وجود فروق يعتد بها إحصائياً بين المجموعة المعالجة بالخالب Deferoxamin والمجموعة المعالجة بالخالب Deferasirox عدا:

نسبة الألبومين/كرياتينين البولية، حيث كانت القيم 16.86± 15.20 و5.94 ± 8.62 مغ/غ على الترتيب.

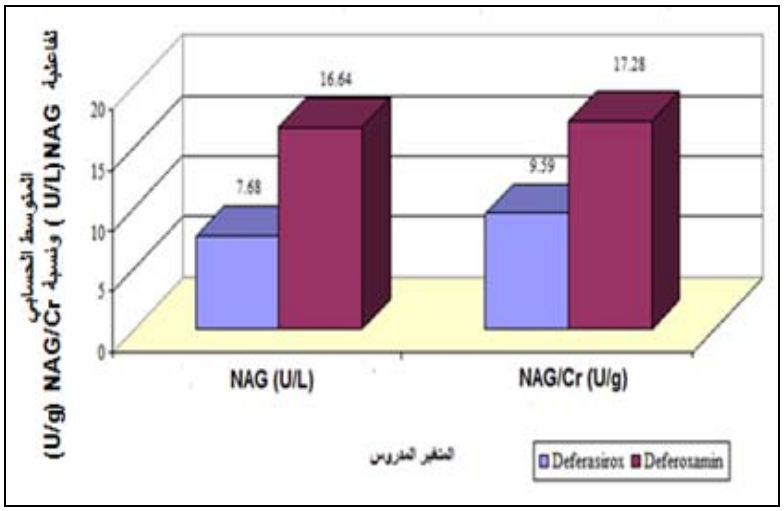
بتطبيق اختبارTستودنت كانت P<0.0001 أي هنالك فارق يعتد به إحصائياً بين المجموعتين (الشكل 20).



الشكل 20 :المتوسط الحسابي لنسبة الألبومين/كرياتينين البولية لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى الذين جرت معالجتهم بالخالبات تبعاً لنوع الخالب المستخدم.

فاعلية NAG، حيث كانت القيم 16.64± 12.25 و7.68 ± 5.68 وحدة دولية /لتر،على الترتيب.

بتطبيق اختبار T ستودنت كانت P< 0.0001 أي هنالك فارق يعتد به احصائياً بين المجموعتين (الشكل 21).



الشكل 21 :المتوسط الحسابي للفاعلية NAG ونسبة NAG/Cr لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين جرت معالجتهم بالخالبات تبعاً لنوع الخالب المستخدم.

ويوضح الجدول 7 نتائج مقارنة تراكيز المتثابتات المدروسة بين المجموعتين .

الجدول 7:نتائج مقارنة تراكيز المتثابتات المدروسة بين المجموعة المعالجة بالخالب Deferoxamin والمجموعة المعالجة بالخالب Deferasirox .

المتثابتة	Deferoxamin n=93	Deferasirox n=32	قيمة p
الكرياتينين (مغ/دل)	0.527 ± 0.094	0.508 ± 0.082	0.331
الغلوكوز (مغ/دل)	96.98 ± 12.36	95.18 ± 11.36	0.105
اليوريا (مغ/دل)	25.31 ± 6.44	25.84 ± 5.9	0.681
نسبة الألبومين/كرياتينين (مغ/غ)	15.20 ±16.86	8 ±5.94	0.0001
NAG (وحدة دولية/لتر)	12.25 ±16.64	5.68 ± 7.68	0.0001
NAG/Cr (U/g)	10.87 ± 17.28	5.62 ± 9.59	0.0001

4 - 8 - تقييم العلاقة بين تراكيز الفيريتين وتراكيز المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى

4 - 8 - 1 - العلاقة بين الفيريتين واليوريا

بدراسة العلاقة بين الفيريتين واليوريا لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ أنP=0.387 وr=-0.067، أي لا توجد علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً بين تراكيز الفيريتين (نانوغرام/مل) وتراكيز اليوريا (مغ/دل).

4 - 8 - 2- العلاقة بين الفيريتين والكرياتينين

بدراسة العلاقة بين الفيريتين والكرياتينين لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ أنP=0.203 وr=0.065، أي لا توجد علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً بين تراكيز الفيريتين (نانوغرام/مل) وتراكيز الكرياتينين (مغ/دل).

4 - 8 - 3- العلاقة بين الفيريتين ونسبة الألبومين/كرياتينين البولبة

بدراسة العلاقة بين الفيريتين ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ أن قيمة P=0.231 وr=0.098، أي لا توجد علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً بين تراكيزالفيريتين (نانوغرام/مل) ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية.

4 - 8 - 4 - العلاقة بين الفيريتن وفاعلية NAG

بدراسة العلاقة بين الفيريتين وفاعلية NAG لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً. وكانت هذه العلاقة طردية متوسطة الشدة متوسطة (r=0.579، P<0.0001).

4 - 9 - تقييم الوظيفة الكلوية لدى أفراد الدراسة

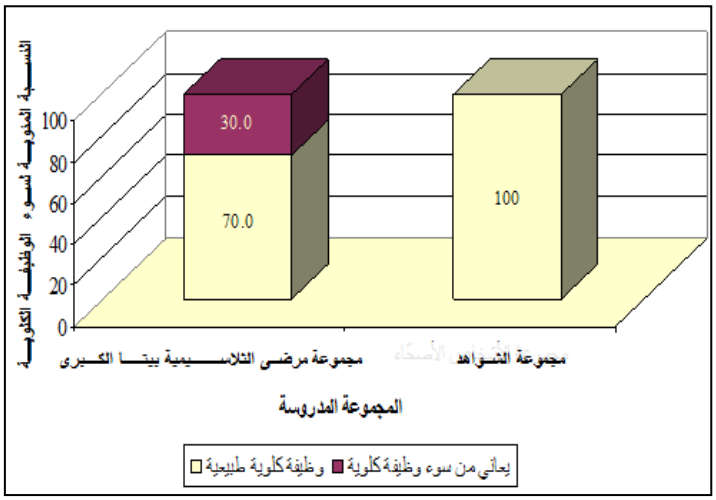
لدى تقييم المتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية للمجموعات المدروسة في عينة البحث وجدنا مايلي:

1- كانت قيم كرياتينين المصل ضمن المجال السوي لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى المرضى ولدى أفراد المجموعة الشاهدة جميعهم.

2- ارتفعت قيم يوريا المصل عن حدها السوي الأعلى لدى 0.6% من مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى بينما كانت قيم يوريا المصل ضمن المجال السوي لدى 99.4 % من المرضى. وبالمقابل كانت قيم اليوريا ضمن المجال السوي لدى أفراد المجموعة الشاهدة جميعهم.

3- بناءً على (Albumin:Creatinine ratio) وجدنا البيلة الألبومينية الزهيدة لدى 30% من مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى حيث (A:C ratio=30-299 mg/g)، بينما كانت نسبة الألبومين إلى الكرياتينين البولية ضمن المجال السوي لدى 70 % من مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى حيث (A:C ratio<30mg/g)، بالمقابل كانت القيم ضمن المجال السوي لدى أفراد المجموعة الشاهدة جميعهم.

بناءً على المعطيات السابقة تبين أن 51 مريض ثلاسيمية بيتا كبرى (30%) يعاني من خلل وظيفي كلوي، بينما 119 مريض ثلاسيمية بيتا كبرى (70%) يملك وظيفة كلوية سوية. في حين كانت الوظيفة الكلوية سوية لدى أفراد المجموعة الشاهدة جميعهم. ويبو هذا واضحاً في الشكل 22



الشكل 22:النسبة المئوية لنتائج تقييم الوظيفة الكلوية لافراد الدراسة تبعاً لمجموعتهم.

أُجري اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى ومجموعة الشواهد، ويظهر هذا واضحاً في الجدول 8.

الجدول8 : نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى ومجموعة الشواهد

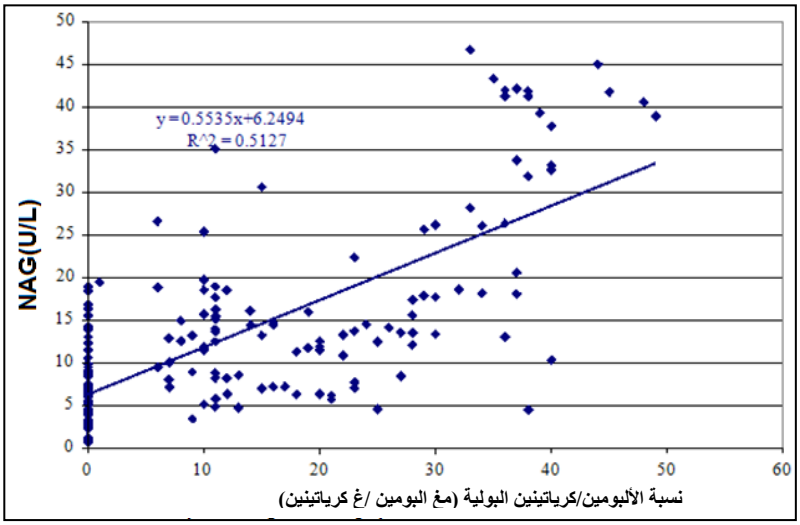
المتغيران المدروسان = حالة الوظيفة الكلوية × المجموعة المدروسة				
دلالة الفروق	قيمة مستوى الدلالة	درجات الحرية	قيمة كاي مربع	عدد الأفراد
توجد فروق دالّة	0.001	1	12.081	200

يبين الجدول أعلاه أن قيمة P أصغر من القيمة 0.05، وبالتالي توجد فروق يعتد بها إحصائياً في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى ومجموعة الشواهد.

4 -10 - دراسة علاقة ارتباط إنزيم N - أسيتيل بيتا- D- غلوكوزأمينيداز بالمتثابتات الكيميائية الحيوية الأخرى لدى مجموعة المرضى

4 - 10- 1- دراسة العلاقة بين إنزيم N - أسيتيل بيتا- D - غلوكوز أمينيداز ونسبة الألبومين /كرياتينين البولية

بدراسة العلاقة بين إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيداز ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ وجود علاقة ارتباط خطية يعتد بها إحصائياً، كانت هذه العلاقة طردية قوية الشدة (r = 0.717، P<0.0001) الشكل 23.



الشكل 23: العلاقة بين نسبة الألبومين/كرياتينين البولية وفاعلية NAG لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

4 - 10 - 2- دراسة العلاقة بين إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيداز والكرياتينين

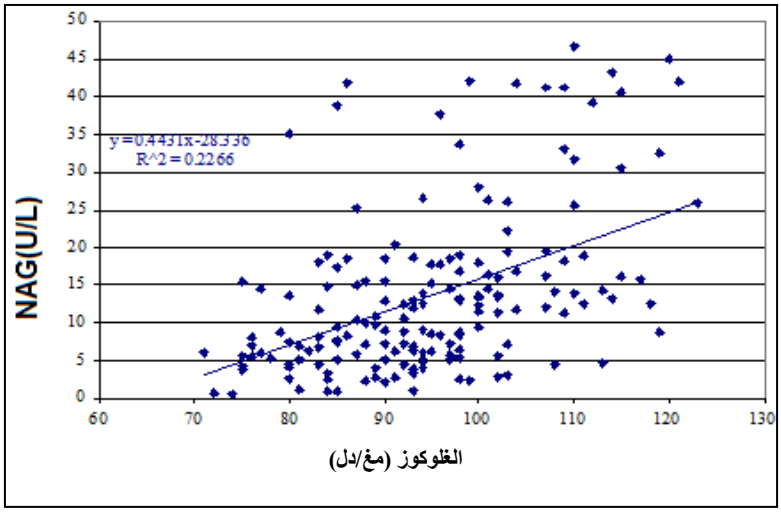
بدراسة العلاقة بين إنزيم N - أسيتيل بيتا- D- غلوكوزأمينيداز والكرياتينين لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ عدم وجود علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً (P=0.140).

4 - 10 - 3 - دراسة العلاقة بين إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيداز واليوريا

بدراسة العلاقة بين إنزيم N - أسيتيل بيتا- D -غلوكوزأمينيداز واليوريا لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ عدم وجود علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً (P=0.982).

4 - 10 - 4 - دراسة العلاقة بين إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوز أمينيداز والغلوكوز

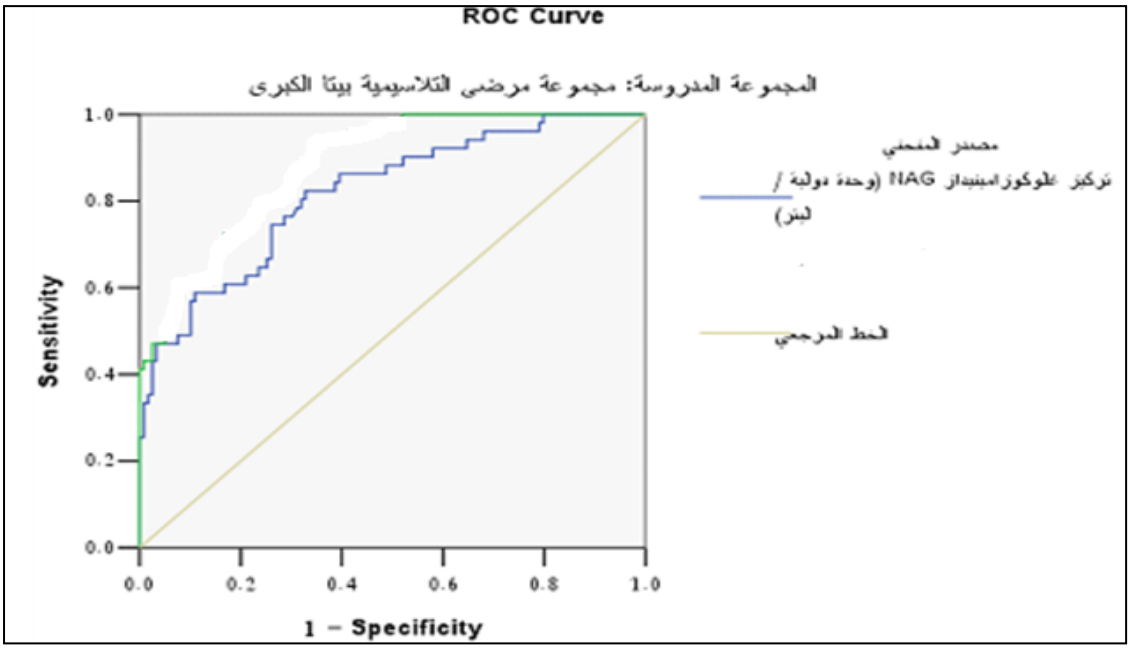
بدراسة العلاقة بين إنزيم N - أسيتيل بيتا- D غلوكوزأمينيداز والغلوكوز لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى (n=170) لوحظ وجود علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً، كانت هذه العلاقة طردية متوسطة الشدة (r = 0.492، P<0.0001) الشكل 24.



الشكل 24 : العلاقة بين الغلوكوز وفاعلية NAG لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

4 - 11 - دراسة القيمة الإنذارية للإصابة بسوء الوظيفة الكلوية اعتماداً على فاعلية NAG لدى مجموعة المرضى

رُسم منحنى ROC لدراسة العلاقة بين فاعلية NAG والإصابة بسوء الوظيفة الكلوية. وحُسبت المساحة تحت منحنى ROC والحساسية والنوعية لفاعلية NAG، اعتماداً على فاعلية NAG في كل من مجموعة مرضى ثلاسيمية مع وظيفة كلوية سيئة ومجموعة مرضى ثلاسيمية مع وظيفة كلوية سوية (الشكل 25،الجدول 9).



الشكل 25 : مخطط منحنى ROC لفاعلية NAG لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين لديهم وظيفة كلوية سئية.

الجدول 9: نتائج حساب المساحة تحت منحنى ROC

المتغير المدروس	المساحة تحت منحنى ROC	الخطأ المعياري	قيمة P	أهمية التمييز احصائياً	درجة التمييز
NAG(U/L)	0.882	0.026	0.0001	**يوجد تمييز يعتد به**	جيدة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أنP < 0.0001، أي نستنتج أن فاعلية NAG يمكن أن يعتد بها إحصائياً للتعبير عن الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى وبما أن المساحة تحت المنحنى قريبة من القيمة 0.9 نستنتج أن درجة تمييز فاعلية NAG للإصابة بسوء الوظيفة الكلوية كانت جيدة.

4 -12 - نتائج حساب قيم الحساسية والنوعية للتنبؤ بسوء الوظيفة الكلوية اعتماداً على فاعلية NAG

حُسبت الحساسية والنوعية للإصابة بسوء الوظيفة الكلوية تبعاً لفاعلية NAG لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى و كانت النتائج موضحة في الجدول 10

الجدول 10: نتائج حساب الحساسية والنوعية لفاعلية NAG

النوعية المحسوبة	الحساسية المحسوبة	الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية عندما يكون تركيز NAGيساوي أو أكبر من:
0.597	0.863	9.910
0.605	0.863	10.148
0.605	0.843	10.413
0.613	0.843	10.675
0.613	0.824	11.025
0.622	0.824	11.325
0.630	0.824	11.413
0.639	0.824	11.463
0.647	0.824	11.625
0.664	0.824	11.813
0.672	**0.824**	**11.973**
0.672	0.804	12.185
0.681	0.804	12.363
0.681	0.784	12.438
0.689	0.784	12.475
0.697	0.765	12.513
0.706	0.765	12.688

الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية عندما يكون تركيز NAGيساوي أو أكبر من:	الحساسية المحسوبة	النوعية المحسوبة
12.913	0.765	0.714
12.988	0.745	0.714
13.088	0.745	0.723
13.213	0.745	0.739

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن أفضل تناسب بين الحساسية والنوعية كان عند القيمة 11.973 وحدة دولية / لتر، حيث كانت قيمة الحساسية تساوي 0.824 وكانت قيمة النوعية تساوي0.672 .

نستنتج أنه يمكن اعتماد القيمة 11.973 وحدة دولية /لتر كقيمة معيارية لتركيز NAG كإنذار للإصابة بسوء الوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

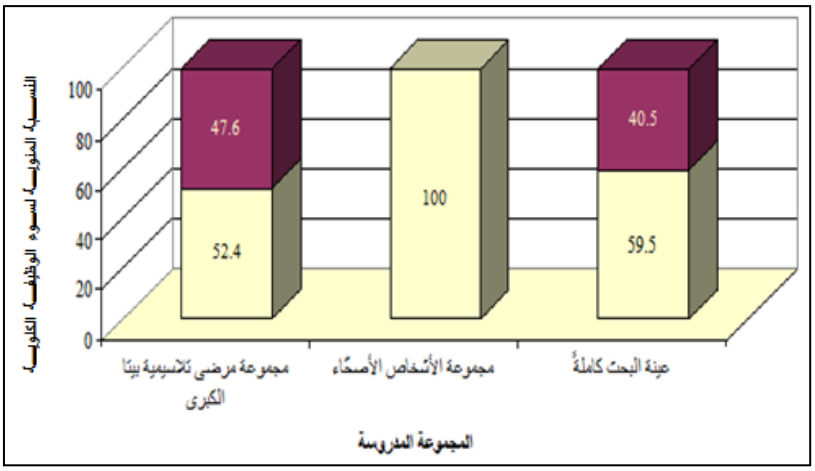
13-4- نتائج تحديد الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية بناءً على القيمة الحدية لفاعلية NAG

حددت الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية لدى مجموعات الدراسة اعتماداً على القيمة 11.973 وحدة دولية /لتر لفاعلية NAG والنتائج موضحة في الجدول 11.

جدول 11: نتائج تحديد الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية بناءً على القيمة 11.973 وحدة دولية/لتر لفاعلية NAG.

المجموعة المدروسة	عدد الأفراد			النسبة المئوية (%)	
	غير مصاب بسوء الوظيفة الكلوية	مصاب بسوء الوظيفة الكلوية	المجموع	غير مصاب بسوء الوظيفة الكلوية	مصاب بسوء الوظيفة الكلوية
مجموعة مرضى الثلاسيمية	89	81	170	52.4	47.6
مجموعة الأشخاص الأصحّاء	30	0	30	100	0

ويبين الشكل 26 النسبة المئوية لنتائج تحديد الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية بناءً على القيمة 11.973 وحدة دولية / لتر لفاعلية NAG وفقاً للمجموعة المدروسة.



الشكل 26 : النسبة المئوية لنتائج تحديد الإصابة بسوء الوظيفة الكلوية بناءً على القيمة 11.973 وحدة دولية / لتر لفاعلية NAG وفقاً للمجموعة المدروسة.

4- 14 - تقييم الوظيفة الكلوية تبعاً للخصائص السريرية للمرضى

4-14-1-الوظيفة الكلوية والجنس

بلغ عدد المرضى الذكور المصابين بسوء وظيفة كلوية 45 مريضاً (45%)، بينما بلغ عدد المرضى الإناث المصابين بسوء وظيفة كلوية 36 مريضة (51.4%) .

أُجري اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين الذكور والإناث لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى ، ويظهر هذا واضحاً في الجدول 12

الجدول 12: نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين الذكور والإناث لدى مجموعة مرضى الثلاسمية بيتا الكبرى.

المتغيران المدروسان = حالة الوظيفة الكلوية × جنس المريض					
دلالة الفروق	**قيمة P**	**درجات الحرية**	**قيمة كاي مربع**	**عدد الأفراد**	**المجموعة المدروسة**
لا توجد فروق دالة	0.174	1	1.850	170	مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى

يبين الجدول أعلاه أن P أكبر بكثير من القيمة 0.05، وبالتالي لا توجد فروق يعتد بها إحصائياً في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين الذكور والإناث لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

4-14-2- الوظيفة الكلوية واستئصال الطحال

دُرست حالة الوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لاستئصال الطحال ويبين الجدول 13 نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية بين المجموعتين.

الجدول 13: نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لاستئصال الطحال.

المجموعة المدروسة	استئصال الطحال	عدد الأفراد			النسبة المئوية	
		وظيفة كلوية طبيعية	سوء وظيفة كلوية	المجموع	وظيفة كلوية سوية	سوء وظيفة كلوية
مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى	لم يستأصل الطحال	72	45	117	61.5	38.5
	استؤصل الطحال	17	36	53	32.1	67.9

أجري اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية لم يستأصل طحالهم ومجموعة مرضى ثلاسيمية استؤصل طحالهم ، ويظهر هذا واضحاً في الجدول 14.

الجدول 14 : نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية لم يستأصل طحالهم ومجموعة مرضى ثلاسيمية استؤصل طحالهم .

المتغيران المدروسان = حالة الوظيفة الكلوية × استئصال الطحال					
دلالة الفروق	قيمة مستوى الدلالة	درجات الحرية	قيمة كاي مربع	عدد الأفراد	المجموعة المدروسة
يعتد بها إحصائياً	0.028	1	4.858	170	مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى

يبين الجدول أعلاه أن قيمة P أصغر من القيمة 0.05، أي توجد فروق يعتد بها إحصائياً في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين المجموعتين.

بدراسة جدول التكرارات والنسب المئوية الموافق يُلاحظ أن نسبة المعاناة من سوء الوظيفة الكلوية لدى مجموعة المرضى الذين لم يستأصل طحالهم كانت أقل منها لدى مجموعة المرضى الذين استئصل طحالهم.

4 -14-3- الوظيفة الكلوية والمعالجة بخالبات الحديد

دُرست حالة الوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى وفقاً للمعالجة بخالبات الحديد. يبين الجدول 15 نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى الثلاسيمية معالجين بخالبات الحديد ومجموعة مرضى الثلاسيمية غير المعالجين بخالبات الحديد.

الجدول 15: نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً للمعالجة بخالبات الحديد.

المجموعة المدروسة	المعالجة بالخالبات	عدد الأفراد			النسبة المئوية	
		وظيفة كلوية سوية	سوء وظيفة كلوية	المجموع	وظيفة كلوية سوية	سوء وظيفة كلوية
مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى	لم تجرالمعالجة بالخالبات	24	21	45	53.3	46.7
	جرت المعالجة بالخالبات	65	60	125	52.0	48.0

أجري اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية لم يعالجوا بالخالبات ومجموعة مرضى ثلاسيمية عولجوا بالخالبات والنتائج موضحة في الجدول 16.

الجدول 16 : نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية لم يعالجوا بالخالبات ومجموعة مرضى ثلاسيمية عولجوا بالخالبات.

المتغيران المدروسان = حالة الوظيفة الكلوية × المعالجة بالخالبات					
دلالة الفروق	قيمة مستوى الدلالة	درجات الحرية	قيمة كاي مربع	عدد الأفراد	المجموعة المدروسة
غير معتد بها	0.343	1	0.899	170	مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى

يبين الجدول أعلاه أن قيمة P أكبر من القيمة 0.05 ، وبالتالي لا توجد فروق يعتد بها إحصائياً في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين المجموعتين.

4 -14-4- الوظيفة الكلوية ونوع الخالب المستخدم في المعالجة

درست حالة الوظيفة الكلوية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى المعالجين بالخالبات تبعاً لنوع الخالب المستخدم في المعالجة ويبين الجدول 17 نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية.

الجدول 17: نتائج تحديد حالة الوظيفة الكلوية في مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى المعالجين بالخالبات تبعاً لنوع الخالب المستخدم.

المجموعة المدروسة	نوع الخالب المستخدم	عدد الأفراد			النسبة المئوية	
		وظيفة كلوية سوية	سوء وظيفة كلوية	المجموع	وظيفة كلوية سوية	سوء وظيفة كلوية
مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى معالجين بالخالبات	Deferasirox	27	5	32	84.4	15.6
	Deferoxamin	38	55	93	40.9	59.1

أجري اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية معالجين بالخال Deferoxamin ومجموعة مرضى ثلاسيمية معالجين بالخالب Deferasirox كما هو واضحاً في الجدول 18.

الجدول 18: نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين مجموعة مرضى ثلاسيمية معالجين بالخالب Deferoxamin ومجموعة مرضى ثلاسيمية معالجين بالخالب Deferasirox.

المتغيران المدروسان = حالة الوظيفة الكلوية × نوع الخالب المستخدم					
دلالة الفروق	قيمة مستوى الدلالة	درجات الحرية	قيمة كاي مربع	عدد الأفراد	المجموعة المدروسة
يعتد بها إحصائياً	0.000	1	13.106	125	مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى معالجين بالخالبات

يبين الجدول أعلاه أن قيمة P أصغر من القيمة 0.05، وبالتالي توجد فروق يعتد بها إحصائياً في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين المجموعتين.

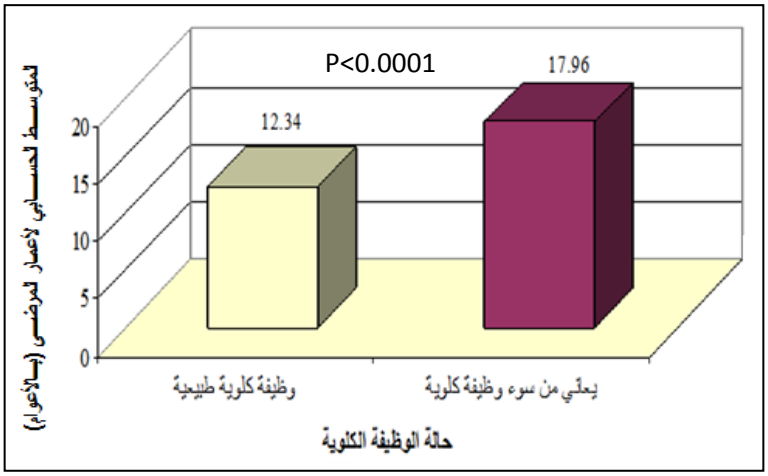
نلاحظ أن الاصابة بسوء الوظيفة الكلوية لدى المرضى المعالجين بالخالبDeferasirox كانت أقل منها لدى المرضى المعالجين بالخالب Deferoxamin.

4 - 14- 5- العلاقة بين الوظيفة الكلوية وعمر المريض

درست العلاقة بين حالة الوظيفة الكلوية وعمرالمريض لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، فبلغ المتوسط الحسابي والإنحراف المعياري لعمر مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مع سوء وظيفة كلوية (17.96± 5.48 عاماً) . بلغ المتوسط الحسابي والإنحراف المعياري لعمر مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مع وظيفة كلوية طبيعية (12.34 ± 0.40 عاماً).

نلاحظ أن قيم عمر المريض (بالأعوام) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية مع وظيفة كلوية سوية كانت أصغر منها في مجموعة مرضى التلاسيمية مع سوء وظيفة كلوية.

بتطبيق اختبارT ستودنت كانت P<0.0001، وبالتالي هناك فارق يعتد به إحصائياً في متوسط قيم عمرالمريض بين المجموعتين ويبدو هذا واضحاً في الشكل 27.



الشكل 27:المتوسط الحسابي لأعمار المرضى لدى مجموعة الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لحالة الوظيفة الكلوية.

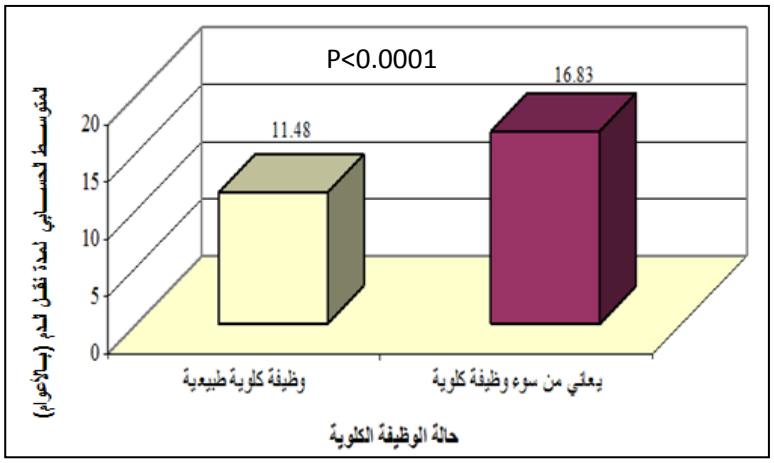
4 - 14 - 6 -الوظيفة الكلوية ومدة نقل الدم.

درست العلاقة بين حالة الوظيفة الكلوية ومدة نقل الدم لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، فبلغ المتوسط الحسابي والإنحراف المعياري لمدة نقل الدم لدى مرضى الثلاسيمية مع سوء وظيفة كلوية : 16.83 ± 5.24 عاماً. وبلغ المتوسط الحسابي والإنحراف المعياري لمدة نقل الدم لدى

مرضى الثلاسيمية مع وظيفة كلوية سوية : 11.48 ± 4.39 عاماً.

نلاحظ أن قيم مدة نقل الدم (بالأعوام) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية مع وظيفة كلوية سوية كانت أصغر منها لدى مجموعة مرضى التلاسيمية مع سوء وظيفة كلوية.

بتطبيق اختبار T ستودنت كانت P<0.0001 ، أي هنالك فارق يعتد به إحصائياً في متوسط قيم مدة نقل الدم بين المجموعتين و يبدو هذا واضحاً في الشكل 28.



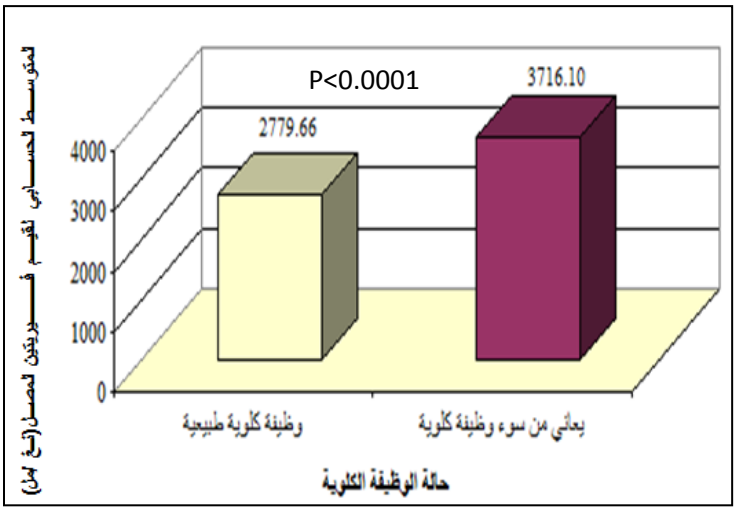
الشكل 28: المتوسط الحسابي لمدة نقل الدم لدى مجموعة الثلاسيمية بيتا الكبرى تبعاً لحالة الوظيفة الكلوية.

4 - 14 - 7- الوظيفة الكلوية وقيم الفيريتين

درست العلاقة بين حالة الوظيفة الكلوية وقيم فيريتين المصل لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى ، وبلغ المتوسط الحسابي والإنحراف المعياري لقيم الفيريتين لدى مرضى الثلاسيمية مع سوء وظيفة كلوية: 3716.10 ± 1227.59 نانوغرام /مل. وبلغ المتوسط الحسابي والإنحراف المعياري لقيم الفيريتين لدى مرضى الثلاسيمية مع وظيفة كلوية سوية : 2779.66 ± 736.74 نانوغرام /مل.

نلاحظ أن قيم الفيريتين لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية مع وظيفة كلوية سوية كانت أصغر منها لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية مع سوء وظيفة كلوية.

بتطبيق اختبار T ستودنت كانت P<0.0001 ، بالتالي هنالك فارق يعتد به إحصائياً في متوسط قيم الفيريتين (نانوغرام /مل) بين المجموعتين ، ويبدو هذا واضحاً في الشكل 29.



الشكل 29:المتوسط الحسابي لتركيز فيريتين المصل لدى مجموعة الثلاسيمية بيتا الكبرى وفقاً لحالة الوظيفة الكلوية.

5 - المناقشة Discussion

وجدنا من خلال دراستنا مايلي:

1. ارتفعت نسبة الألبومين/كرياتينين البولية (Albumin:creatinine ratio) لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية مقارنة مع المجموعة الشاهدة. وكان الفرق يعتد به إحصائياً (P<0.0001) ، ووجدت البيلة الألبومينية الزهيدة لدى 30% من المرضى. وبالاعتماد على البيلة الألبومينية الزهيدة تبين أن 30% من مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى يعانون من اضطرابات في الوظيفة الكلوية.

توافقت هذه النتائج مع نتائج كل من Hamed E و زملائه عام 2010 [112] حيث وجدت البيلة الألبومينية الزهيدة Microalbuminurea لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مقارنة مع الأصحاء. ولقد إعتبروا فرط الإرتشاح الكبيبي الطويل الأمد، التصلب الكبيبي، وفقر الدم المزمن من أهم أسباب البيلة الألبومينية الزهيدة .

إلا أن دراسة Yonus Z وزملائه عام 2012 [113] أظهرت عدم وجود اختلافات في معدل البيلة الألبومينية الزهيدة لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى بالمقارنة مع الأصحاء، وبالتالي الوظيفة الكلوية لدى هؤلاء المرضى غير متأثرة ، وقد يعود السبب في ذلك إلى اختلاف طبيعة أفراد الدراسة من حيث (طول فترة المرض، مستويات فيريتين المصل، عدم استخدام خالبات للحديد)

2. كانت مستويات كرياتينين المصل لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية أعلى مقارنة مع المجموعة الشاهدة، وكان الفرق يعتد به احصائياً، ولكن بقيت قيم الكرياتينين ضمن المجال السوي، وبالاعتماد على مستويات الكرياتينين المصلية نستنتج عدم وجود اضطرابات ظاهرية في وظائف الكلية. ومن المعروف أنه لا يمكن اعتماد كرياتينين المصل كمشعر مبكر وحساس للاعتلال الوظيفي الكلوي، حيث قد تبقى قيم كرياتينين المصل ضمن الحدود السوية، لدى من يملك كتلة عضلية صغيرة، على الرغم من وجود أذية كلوية جوهرية [65].

توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Mensi K وزملائه عام 2013[114] (حيث P =0.012) وIsmail N وزملائه عام 2012[115] و Hamed E وزملائه عام 2010[112](حيث P< 0.001)، حيث كان هنالك ارتفاع في كرياتينين المصل لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى بالمقارنة مع الأصحاء لكن بقيت قيم الكرياتينين ضمن الحدود الطبيعية.

بينما اختلفت نتائجنا مع نتائج كل من Doddamani P وزملائه عام 2012 [116]، حيث لم يكن هنالك اختلاف في مستويات كرياتينين المصل بين مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مقارنة مع الأصحاء. وقد يعود السبب في ذلك إلى اختلاف طبيعة أفراد الدراسة من حيث (العمر، طول فترة المرض، المعالجة بخالبات الحديد)، وكذلك مستويات كرياتينين المصل تتعلق بمنسب كتلة الجسم وبالكتلة العضلية.

3. وجدنا أنه ليس هنالك فرق يعتد به احصائياً في مستويات اليوريا بين مجموعة مرضى الثلاسيمية والمجموعة الشاهدة. حيث ارتفعت قيم يوريا المصل عن حدها الأعلى السوي لدى 0.6% من المرضى بينما كانت القيم ضمن المجال السوي لدى 99.4 % من المرضى بالمقابل كانت قيم اليوريا ضمن المجال السوي لدى أفراد المجموعة الشاهدة جميعهم. وبالتالي تبين عدم وجود اضطرابات ظاهرية في وظائف الكلية بالاعتماد على مستويات اليوريا المصلية.

توافقت هذه النتائج مع نتائج كل من Fathi F وزملائه عام 2013 [117] وYonus Z وزملائه عام 2012[113] حيث كانت مستويات اليوريا ضمن الحدود الطبيعية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مقارنة مع الأصحاء، مما يدل على عدم تدهور الوظيفة الكبيبية خاصة ترشيح اليوريا .

4. ارتفعت مستويات الغلوكوز الصيامي لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مقارنة مع المجموعة الشاهدة، وكان الفرق معتداً به إحصائياً، حيث كانت مستويات الغلوكوز الصيامي مرتفعة لدى 22.9% من مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، بينما كانت قيم الغلوكوز ضمن المجال السوي لدى 77.1 % من المرضى، بالمقابل كانت قيم الغلوكوز ضمن المجال السوي لدى أفراد المجموعة الشاهدة جميعهم.

يعد عدم تحمل الغلوكوز وتطور الداء السكري لاحقاً من المضاعفات الغدية الشائعة لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، ويعود ذلك بشكل رئيسي إلى توضع الحديد في البنكرياس، حيث يلاحظ الداء السكري والمقاومة للأنسولين بنسبة تصل من 6% إلى 10 % لدى مرضى الثلاسيمية الخاضعين لنقل الدم منتظم ولديهم تحميل مفرط بالحديد.

توافقت هذه النتائج مع نتائج كل من Mohkan M وزملائه عام 2008[37]، حيث كان 13.16% من مرضى الثلاسيمية يعاني من فرط سكر الدم.

5. كانت المستويات البولية لفاعلية إنزيم N - أسيتيل بيتا- D- غلوكوز أمينيداز مرتفعة لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مقارنة مع المجموعة الشاهدة. ونظراً لأن إنزيم N - أسيتيل بيتا- D -غلوكوزأمينيداز ليس له منشأ بلازمي، ولا يرشح عبر الكبيب فإن تواجده في البول يعود للخلل الوظيفي النبيبي والبيلة البروتينية النبيبية، فهو مؤشر حساس للضرر في النبيبات الدانية، وبالتالي يمكن الاستنتاج أن هؤلاء المرضى يعانون من التخرب النبيبي الكلوي، وبالاعتماد على المستويات البولية لفاعلية NAG تبين أن 47.6 % من مرضى الثلاسيمية يعاني من سوء وظيفة كلوية.

توافقت هذه النتائج مع نتائج كل منJalali A وزملائه عام 2011 [118] ، Hamed E وزملائه عام 2010 [112]، Mohkan M وزملائه عام 2008 [37]،Smolkin V وزملائه عام 2008 [31] وVoskaridou E و زملائه عام 2007 [119] (P< 0.001)، حيث كان الإطراح البولي لإنزيم N - أسيتيل بيتا- D- غلوكوزأمينيداز مرتفعاً بشكل ملحوظ لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مقارنة مع الأصحاء.

6. كانت قيم المتثابتات الكيميائية الحيوية المرتبطة بالوظيفة الكلوية (يوريا، الغلوكوز، الكرياتينين، نسبة الألبومين/كرياتينين البولية، NAG)، غير مرتبطة بالجنس، فلم نجد فروقاً يعتد بها إحصائياً في تكرارات حالة الوظيفة الكلوية بين الذكور والإناث لدى مجموعة

مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى. ومنه نستنتج أن جنس المريض لا يؤثر على الوظيفة الكلوية .
توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Jalali A وزملائه عام 2011 [118] وMohkan M وزملائه عام 2008 [37] حيث لم يلاحظ وجود علاقة بين الجنس والإطراح البولي لإنزيم N - أسيتيل بيتا- D -غلوكوزأمينيداز. وكذلك توافقت نتائجنا مع نتائج Fathi F وزملائه عام 2013 [117]، حيث لم يلاحظ وجود اختلاف في قيم المتثابتات المدروسة (الكرياتينين، اليوريا) بين المرضى الذكور والمرضى الإناث.

7. كانت مستويات اليوريا المصلية غير مرتبطة بالعمر ولقد توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Fathi F وزملائه عام 2013 [117] وYonus Z وزملائه عام 2012[113]. بينما كانت هنالك علاقة ارتباط طردية بين العمر ومستويات الكرياتينين لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، كما وجدنا علاقة ارتباط طردية بين العمر ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية وكذلك بين العمر والمستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG لدى المجموعة نفسها. ومنه نستنتج وجود علاقة مباشرة بين طول فترة المرض وازدياد المضاعفات الكلوية. ويعتبر الأشخاص الأكبر سناً هم الأكثر عرضة للخلل الوظيفي الكلوي.
توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Fathi F وزملائه عام 2013 [117] و Safaei ASL وزملائه عام 2009 [120] حيث وجدوا اختلافاً وزيادة واضحة في مستويات كرياتينين المصل بتقدم العمر($P < 0.05$).
توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Doddamani P وزملائه عام 2012 [116]، حيث كان هناك علاقة ايجابية يعتد بها إحصائياً بين العمر ونسبة الألبومين /كرياتينين البولية حيث كانت ($P<0.05, r=0.938$). كذلك توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Jalali A و زملائه عام 2011[118] وMohkan M وزملائه عام 2008[37] ، حيث وجدوا علاقة يعتد بها إحصائياً بين إفراز إنزيم NAG في البول وعمر المريض حيث كانت ($P<0.001, r=0.35$).

8. بينت دراستنا عدم وجود علاقة يعتد بها إحصائياً بين مدة المعالجة بنقل الدم وكل من مايلي: مستويات الكرياتينين المصلية ومستويات اليوريا المصلية ومستويات الغلوكوز الصيامي لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى. وبالمقابل وجدت علاقة يعتد بها إحصائياً بين مدة المعالجة بنقل الدم ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية. وكذلك بين مدة المعالجة بقل الدم والمستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG لدى المجموعة نفسها . ومنه نستنتج أن وجود فقر

الدم المزمن المترافق مع توضعات الحديد في النسج بسبب نقل الدم المتكرر من أهم أسباب الخلل الوظيفي الكلوي. وبالتالي الأشخاص الأكثر عرضة للخلل الوظيفي الكلوي هم المرضى الذي خضعوا لنقل الدم مدة أطول نسبياً .

توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Jalali A و زملائه عام 2011[118] وMohkan M وزملائه عام 2008[37]، حيث وجدت علاقة يعتد بها إحصائياً بين إفراز إنزيم NAG في البول ومدة المعالجة بنقل الدم حيث كانت (P<0.001,r=0.34). وتوافقت نتائجنا مع نتائج Doddamani P وزملائه عام 2012 [116]، حيث وجدت علاقة ايجابية يعتد بها إحصائياً بين مدة المعالجة بنقل الدم ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية وكانت (P<0.05,r=0.866).

9. وجدنا من خلال دراستنا غياب العلاقة بين المعالجة باستئصال الطحال وبين المتثابتات التالية: مستويات الكرياتينين المصلية، مستويات اليوريا المصلية، مستويات الغلوكوز الصيامي لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى حيث لم نجد فروقاً يعتد بها إحصائياً بين مجموعة المرضى مستأصلي الطحال ومجموعة المرضى غير مستأصلي الطحال، وبالمقابل كانت هنالك علاقة يعتد بها إحصائياً بين استئصال الطحال ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية، وكذلك بين استئصال الطحال والمستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG لدى المجموعة نفسها، حيث كانت نسبة الألبومين/كرياتينين البولية والمستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG لدى المرضى المستأصل طحالهم أعلى بوضوح مقارنة مع المرضى غير مستأصل طحالهم. ومنه نستنتج أن المرضى مستأصلي الطحال هم الأكثر عرضة للخلل الوظيفي الكلوي.

توافقت نتائجنا مع نتائج Morsi M وزملائه عام 2008 [121] حيث لم يكن هنالك أي اختلاف يعتد به إحصائياً بين مجموعة المرضى المستأصل طحالهم ومجموعة المرضى غير مستأصلي الطحال بالنسبة لكل من كرياتينين المصل (P=0.31) والغلوكوز(P=0.99).

بينما اختلفت نتائجنا مع نتائج Ismail N وزملائه عام 2012 [115]، حيث كانت مستويات الكرياتينين المصلية، مستويات اليوريا لدى مرضى الثلاسيمية مستأصلي الطحال أعلى. وقد يعود السبب في ذلك إلى اختلاف طبيعة أفراد الدراسة من حيث (مدة استئصال الطحال، استخدام المعالجة الخالبة للحديد). إلا أنها اتفقت مع نتائجنا في جانب آخر وهو أن المرضى المستأصلي الطحال أكثرعرضة للخلل الوظيفي الكلوي. وكذلك وجد Taher A وزملائه عام 2009 [122]، أن كميات الحديد الحر غيرالمرتبط مع الترانسفيرين تتزايد بشكل كبير لدى

المرضى الذين خضعوا لاستئصال الطحال، مما يعني أن الطحال يقوم بتخليص الجسم من الكريات الحمراء ذات الحمولة الحديدية الكبيرة [13]، حيث يخفز الحديد الحر في لمعة النبيب تشكل أنواع الأكسجين الفعال السامة والتي تسبب أذية خلوية ومنه سمية كلوية وخللاً وظيفياً نبيبياً.

10. غابت العلاقة بين المعالجة بالخالبات والمتثابتات الكيميائية المدروسة: مستويات الكرياتينين المصلية، مستويات اليوريا المصلية، مستويات الغلوكوز الصيامي، نسبة الألبومين/كرياتينين البولية والمستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG لدى مجموعة مرضى التلاسيمية بيتا الكبرى.
وتوافقت نتائجنا مع نتائج Hamed E وزملائه عام 2010[112]، حيث لم يلاحظ وجود علاقة إحصائية بين المعالجة بالخالبات وبين الكرياتينين، نسبة الألبومين/كرياتينين البولية والمستويات البولية لإنزيم NAG، حيث ارتفعت قيمة هذه المتثابتات لدى المرضى المعالجين بالخالبات وغير المعالجين بالخالبات، ولم يكن هناك فرق يعتد به إحصائياً بين المجموعتين.
توافقت نتائجنا مع نتائج Fathi F وزملائه عام 2013[117]، حيث لم يلاحظ وجود اختلافات يعتد بها إحصائياً في مستويات الكرياتينين، اليوريا بين مجموعة مرضى الثلاسيمية المعالجة بالخالبات ومجموعة المرضى غير المعالجين بالخالبات.
كذلك توافقت نتائجنا مع نتائج كل منSumboonnanonda A وزملائه عام 2003 [123] وKoliakos G وزملائه عام 2003[33] حيث لم يجدوا أثراً مؤكداً لخالبات الحديد على الوظيفة الكلوية واقترحوا أن هذا الخلل الكلوي قد يعود إلى فقر الدم المزمن والتحميل المفرط بالحديد.
كما لم نجد علاقة يعتد بها إحصائياً بين مدة العلاج بالخالبات والمتثابتات الكيميائية التالية: مستويات الكرياتينين المصلية، مستويات اليوريا المصلية، مستويات الغلوكوز الصيامي، نسبة الألبومين/كرياتينين البولية لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى المعالجين بالخالبات، ولكن كانت هنالك علاقة يعتد بها إحصائياً بين مدة المعالجة بالخالبات والمستويات البولية لإنزيم NAG لدى المجموعة نفسها. ومنه نستنتج أن طول مدة المعالجة بخالبات الحديد يمكن أن تلعب دوراً في إحداث الخلل الوظيفي النبيبي.
توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Jalali A وزملائه عام 2011 [118] وMohkan M

وزملائه عام 2008[37]، حيث وجدت علاقة يعتد بها إحصائياً بين إفراز إنزيم NAG في البول ومدة المعالجة بخالبات الحديد(P<0.001,r=0.31).

11. بينت دراستنا عدم وجود علاقة يعتد بها إحصائياً بين نوع الخالب المستخدم في المعالجة (Deferasirox، Deferoxamin) وبين المتثابتات التالية: مستويات الكرياتينين المصلية، مستويات اليوريا المصلية ومستويات الغلوكوز الصيامي لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى المعالجين بالخالبات. بالمقابل كانت هنالك علاقة يعتد بها إحصائياً بين نوع الخالب ونسبة الألبومين/كرياتينين البولية وكذلك بين نوع الخالب المستخدم والمستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG لدى المجموعة نفسها، حيث لاحظنا أن مرضى الثلاسيمية المعالجين بالخالب Deferoxamin هم أكثر عرضة للخلل الوظيفي الكلوي. وتوافقت نتائجنا مع نتائج كل من Jalali A وزملائه عام 2011[118]، Mohkan M وزملائه عام 2008[37] و Smolkin وزملائه عام 2008[31]، حيث كان مرضى الثلاسيمية المعالجين بالخالب Deferoxamin هم الأكثر عرضة للخلل الوظيفي الكلوي.

وتوافقت نتائجنا مع نتائج Ismail N وزملائه عام 2012 [115] حيث كانت مستويات اليوريا لدى المرضى المعالجين بالخالب Deferoxamin أعلى ولكن لم يكن هنالك فارق يعتد به إحصائياً بين الخالبين. بينما اختلفت نتائجنا مع نتائج Ismail N وزملائه عام 2012 [115] حيث كانت مستويات الكرياتينين المصلية لدى المرضى المعالجين بخالب Deferoxamin أعلى مقارنة مع الخالب الفموي Deferipron وكان هناك فارق يعتد به إحصائياً بين الخالبين. ويعود السبب في اختلاف نوع الخالب الفموي المستخدم. وبالتالي التناول المزمن للخالب Deferoxamin ممكن أن يسبب ضرر كلوياً معتمداً على مدة المعالجة.

12. كانت مستويات فيريتين المصل غير مرتبطة بأية علاقة مع المتثابتات المدروسة التالية: مستويات اليوريا المصلية، مستويات الكرياتينين المصلية، الالبومين في البول .

توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Fathi F وزملائه عام 2013 [117] ، Yonus Z وزملائه عام 2012 [112]، حيث لم يكن هنالك ارتباط يعتد به بين هذه المتثابتات ومستويات الفيريتين المصلية.

بينما كان هنالك علاقة يعتد بها إحصائياً بين مستويات الفيريتين المصلية والمستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Jalali A وزملائه عام 2011 [118] حيث وجدوا علاقة ارتباط ايجابية بين مستويات الفيريتين المصلية والمستويات البولية لفاعلية NAG حيث كانت (P<0.001,r=0.2).

بينما اختلفت نتائجنا مع نتائج كل من Mohkan M وزملائه عام 2008[37]، Smolkin V وزملائه عام 2008[31]، حيث لم يجدوا علاقة بين مستويات الفيريتين المصلية والمستويات البولية لفاعلية NAG ، وبالتالي لم تكن هناك علاقة واضحة بين مستويات الفيريتين المصلية والأذية النبيبية، حيث قد لا تعكس مستويات الفيريتين المصلية درجة توضع الحديد في النبيبات الكلوية.

وجدنا أن قيم الفيريتين لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الذين لديهم سوء وظيفة كلوية كانت أعلى، مقارنة مع مرضى الثلاسيمية الذين لديهم وظيفة كلوية سوية. وبالتالي نستنتج أن هنالك علاقة بين التحميل المفرط بالحديد والمضاعفات الكلوية. ومنه يمكن ارجاع الضرر النبيبي الكلوي إلى التحميل المفرط بالحديد، فمن المعروف أن زيادة تركيز الحديد الحر تتواسط الأكسدة الفائقة للشحوم الأمر الذي يسهم في تخرب الخلايا.

13. بينت دراستنا عدم وجود علاقة ارتباط يعتد بها إحصائياً بين المستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG وبين المستويات المصلية لليوريا والكرياتينين لدى مجموعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى. فإن ارتفاع فاعلية الإنزيم البولية غير مترافق مع ارتفاع الكرياتينين واليوريا. ومنه يمكن للخلل النبيبي الكلوي أن يظهر لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مع غياب الأعراض السريرية وقبل ظهور أي تعقيدات أخرى. ولقد توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Hamed E وزملائه عام 2010 [112] (r=0.159) وJalali A وزملائه عام 2011 [118]، حيث لم يجدوا علاقة بين مستويات الكرياتينين المصلية ومستويات NAG البولية.

14. ارتبطت نسبة الألبومين/كرياتينين البولية مع المستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG . وهكذا يمكن اعتبار إنزيم N- أسيتيل بيتا- Dغلوكوزأمينيداز البولي معياراً حساساً وموثوقاً للخلل النبيبي الكلوي الداني، كما يمكن اعتماده كعامل متنبئ ومبكر للبيلة البروتينية والتخرب الكلوي.

لقد توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Hamed E وزملائه عام 2012[112] (r=0.885)

وMohkan M وزملائه عام 2008 [37](r=0.624) حيث وجدوا علاقة بين البيلة الالبومينية الزهيدة ومستويات NAG البولية.

15. ارتبطت مستويات الغلوكوز الصيامي والمستويات البولية لفاعلية إنزيم NAG، توافقت نتائجنا مع نتائج Mohkan M وزملائه عام 2008 [37] حيث وجدوا علاقة ارتباط قوية بين مستويات الغلوكوز الصيامي وبين المستويات البولية لإنزيم NAG .

16. نستنتج من خلال دراستنا أن الخلل الوظيفي النبيبي من الاضطرابات الشائعة لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، وإن الآليات الكامنة وراء المرض النبيبي تشمل فقر الدم المزمن، التحميل المفرط بالحديد وسمية خالبات الحديد (ديفيروكسامين).

لقد أشارت الدراسات التالية إلى ارتفاع معدلات الخلل الوظيفي النبيبي الداني لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى :

- بينت دراسة Sumboonnanonda و زملائه عام 2003 وجود الخلل الكلوي لدى 34 مريضاً تلاسيمية ألفا، إذ كانت المستويات البولية لكل من NAG ، المالون ثنائي الألدهيد مرتفعة لدى مجموعة المرضى مقارنة مع الأصحاء، كما أشار هؤلاء الباحثون إلى أن نسبة بروتين /كرياتينين كانت أكثر ارتفاعاً لدى 60% من المرضى ووجدوا بيلة أحماض أمينية معممة لدى مريضين في المجموعة المدروسة [123].

- أظهر Smolkin وزملائه عام 2008 وجود خلل في الوظيفة النبيبية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى. وهذا الخلل لا يكشف بالاختبارات التقليدية وأقترح أن سبب الخلل الكلوي فقر الدم المزمن والشدة التأكسدية [31].

- وجد Mohkan وزملائه عام 2008 تخرباً نبيبياً كلوياً لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى حيث كان الاطراح البولي للـ NAG مرتفعاً لدى ما يزيد عن ثلث المرضى وكذلك وجدت البيلة البروتينية لدى 89.3% من المرضى [37].

- تبين لـ Sadeghi وزملائه عام 2008 وجود خلل وظيفي نبيبي لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى واعتبر التحميل المفرط بالحديد والشدة التاكسدية من الأسباب التي تلعب دوراً في الخلل الكلوي[36].

- درس Hamed وزملائه عام 2012 الوظيفة الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا كبرى وتبين لهم وجود خلل نبيبي و كبيبي لدى هؤلاء المرضى، إلاأن الاختبارات التقليدية لم تكشف

هذا الخلل، وعدوا الإطراح البولي للـ NAG مشعر مبكر للسمية النبيبية [112].

- قام Jalali وزملائه عام 2011 بدراسة الوظيفة الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، حيث كانت المستويات البولية للـ NAG مرتفعة لدى 58% من مرضى الثلاسيمية مقارنة مع الأصحاء، وأشار الباحثون إلى وجود خلل وظيفي كلوي لدى أكثر من نصف المرضى [118].

- تبين لـ Younus وزملائه عام 2012 وجود تبدلات طفيفة وغير ظاهرة سريرياً في وظائف الكلية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى[113].

17. حددت القيمة 11.9 وحدة دولية/لتر كقيمة معيارية لفاعلية إنزيم NAG البولية كإنذار للإصابة بسوء الوظيفة الكلوية، ولقد توافقت نتائجنا مع نتائج كل من Jalali وزملائه عام 2011 [118]، حيث كانت فاعلية إنزيم NAG البولية لدى الأشخاص الأسوياء بين 0.15 - 11.5 وحدة دولية/لتر.

6 - التوصيات Recommendations

من خلال النتائج التي حصلنا عليها يمكن أن نوصي بمايلي:

1. مقايسة فيريتين المصل بصورة دورية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى لمتابعة التحميل المفرط بالحديد لديهم.

2. استخدام مقايسة فاعلية إنزيم NAG البولية لاستقصاء سوء الوظيفة النبيبية بصورة مبكرة لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى.

3. متابعة مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى مرتفعي فاعلية NAG البولية من خلال إجراء مقايسات دورية لبروتين البول والكرياتينين واليوريا لديهم للحد من تطور الاعتلال الوظيفي الكلوي.

4. التأكيد على الانتظام في المعالجة بخالبات الحديد مع المتابعة المستمرة للمتثابتات المرتبطة بالوظيفة الكلوية.

5. مراقبة الوظيفة الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى السكريين والذين استؤصل طحالهم والخاضعين لنقل دم منذ مدة طويلة.

الملخص

المقدمة:تعد متلازمة الثلاسيمية بيتا الكبرى من أكثراضطرابات فقرالدم الوراثية شيوعاً، وهي تنجم عن خلل اصطناع سلسلة الغلوبين بيتا المؤدي إلى تكدس سلسلة الغلوبين ألفا الحرة ضمن طلائع الكريات الحمر. يعاني مرضى الثلاسيمية من فقر دم وخيم متزامن مع ترسب الحديد في النسج بسبب نقل الدم المتكرر، الذي هو السبب الرئيسي في خلل وظيفي في عدد من الأعضاء، خاصة في الأجهزة القلبية الوعائية، الصماوية، الكلوية، الكبدية.

إنزيم N-أسيتيل -بيتا-d- غلوكوزأمينيداز إنزيم محلمه للبروتينات السكرية ، وزنه الجزيئي مرتفع ولا يرتشح عبر الكبيبات، يزداد اطراحه البولي لدى المرضى الذين يعانون من اضطرابات في وظائف الكلية. ويمكن اعتماده واسم حساس ومبكر للإصابة الكلوية النبيبية في بدايتها.

الهدف:هدفت دراستنا إلى تقييم الوظيفة الكلوية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، باستخدام الواصمات التقليدية (كرياتينين، اليوريا، البيلة الألبومينية الزهيدة) والمبكرة (فاعلية إنزيم N-أسيتيل -بيتا-d- غلوكوزأمينيداز) لسوء الوظيفة الكلوية وربط الموجودات مع المتثابتات السريرية (العمر، مدة المعالجة بنقل الدم، فيريتين المصل،استئصال الطحال، المعالجة الخالبة للحديد)

المواد والطرق:اشتملت هذه الدراسة على 170 مريض ثلاسيمية بيتا كبرى (أعمارهم بين 4-28 عاماً) و30 شواهد أصحاء (أعمارهم بين 4-28- عاماً).

جرى جمع عينات الدم وفصل المصل لمقايسة الكرياتينين واليوريا والفيريتين، وجمعت أيضاً عينات البول لمقايسة الكرياتينين، الألبومين وفاعلية إنزيم N-أسيتيل -بيتا-d- غلوكوزأمينيداز. وحسبت نسبة الألبومين /كرياتينين البولية (A:C ratio)(مغ/غ).

النتائج:أظهرت نتائجنا ارتفاعاً يعتد به في نسبة الألبومين /كرياتينين البولية، مستويات الكرياتينين، فاعلية إنزيم N-أسيتيل -بيتا-d- غلوكوزأمينيدازالبولية لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، مقارنة مع الشواهد (p < 0.0001، 0.017، 0.0001 على الترتيب). ومن ناحية أخرى لم يكن هنالك فرق يعتد به في مستويات يوريا المصل بين مرضى الثلاسيمية بيتا والشواهد (p=0.480). ولدى مرضى الثلاسيمية بيتا، أظهرت نسبة الألبومين/كرياتينين البولية، فاعلية إنزيم N-أسيتيل -بيتا-d- غلوكوزأمينيدازارتباطاً ايجابياً يعتد به مع مدة المعالجة بنقل الدم ومع العمر.

كذلك أظهرت نتائجنا ارتفاعاً يعتد به في فاعلية إنزيم N-أسيتيل -بيتا-d- غلوكوزأمينيداز البولية ونسبة الألبومين /كرياتينين البولية لدى مرضى الثلاسيمية الذين استؤصل طحالحم، مقارنة مع مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى الذين لم يستأصل طحالهم (p< 0.0001، 0.003 على الترتيب)، ومن ناحية أخرى لم يكن هنالك فرق يعتد به في تراكيز المتثابتات المدروسة بين المجموعة التي لا تأخذ خالبات والمجموعة التي تأخذ خالبات، بينما كانت هنالك علاقة طردية متوسطة الشدة بين فاعلية إنزيم N-أسيتيل -بيتا-d- غلوكوزأمينيداز ومدة المعالجة بالخالبات حيث (p<0.0001،r=0.466).

الاستنتاج: تقترح هذه الدراسة أن سوء الوظيفة الكلوية من المضاعفات الشائعة لدى مرضى الثلاسيمية بيتا الكبرى، دون مظاهر سريرية لسوء الوظيفة الكلوية.

الكلمات المفتاح: الثلاسيمية بيتا، سوء الوظيفة الكلوية، الكرياتينين، اليوريا، البيلة الألبومينية الزهيدة، فاعلية N-اسيتيل بيتا-D-غلوكوزأمينيداز.

abstract

Introduction :β-thalassemia major syndrome is an most common inherited anemia disorders in Syria caused by impaired β-globin chain synthesis leading to accumulation of unpaired α globin chain into erythrocyte precursors.The patients with thalassemia major have severe anemia, along with tissue deposition of iron due to multiple blood transfusions, which is the main cause of multiple organ dysfunctions,especially in the cardiovascular, endocrine, renal and hepatic systems.
NAG is a lysosomal enzyme which plays a role in the breakdown of glycoproteins, although this enzyme is of high molecular weight (140 KD), it is considered mainly as early marker of renal tubular function. NAG is secreted by tubular epithelium, its measurement has been undertaken in a variety of diseases associated with renal injury
Aim:Our study aimed to evaluate the renal function in beta thalassemia patients, using conventional (as creatinine, urea, microalbuminurea) and early (as N-acetyl-b-D-glucosaminidase) markers of renal dysfunctions and to correlate the findings with clinical parameters.
Materials and Methods:170 β-thalassemia major patients (aged 4-28 years) and 30 healthy controls (aged 4-28 years) were enrolled in this study . Blood samples were collected and serum was separated for measurement of creatinine, urea, glucose and ferritin. Urine samples were also collected for measurement of creatinine, albumin and N-acetyl-b-D-glucosaminidase activity (NAG). The Albumin:Creatinine ratio (mg/g) were calculated (A:C ratio).
Results:Our results showed significant increase in Albumin:Creatinine ratio,NAG activity and serum creatinine in beta thalassemia patients comparing with controls ($p<0.0001$, 0.0001 and 0.017 respectively). On the other hand, there were no significant difference in serum urea levels between patients and controls ($p=0.480$). In thalassemia patients, A:C ratio and NAG activity showed significant positive correlation with period of treatment with blood transfusion and age. Also our results showed significant increase in A:C ratio and NAG activity in patients with splenectomy ($p<0.0001$ and 0.003 respectively). No significant difference was found between patients with and without chelation regarding biochemical parameters.On the other hand, NAG activity showed significant positive correlation with duration of chelation ($r=0.466$،$p<0.0001$)
Conclusion:As a conclusion this study suggest that renal dysfunction are common complications in patients with beta thalassemia major, without clinical manifestation of renal dysfunction.

Keywords:Beta thalassemia, renal dysfunction, creatinine, urea, microalbuminuria, NAG activity.

References

1. Weatherall DJ, Clegg JB . The Thalassemia Syndromes: 4th Ed, Oxfored Blackwell Science,2001.
2. Weatherall DJ. The thalassemias. In: Stamatoyannopoulos G, Perlmutter RM, Marjerus PW and Varmus H (eds) Molecular Basis of Blood Diseases, 3rd edn. Philadelphia: WB Saunders,2000.
3. Leung WC, Leung KY, Lau ET, Tang MH, Chan V: Alpha thalassaemia. Semin Fetal Neonatal Med 2008, 13(4): 215-222.
4. Fucharoen S, Viprakasit V: Hb H disease: clinical course and disease modifiers. Hematology 2009, 26 - 34.
5. Giardine B, van Baal S, Kaimakis P, Riemer C, Miller W, Samara M, KolliaP, Anagnou NP, Chui DH, Wajcman H, Hardison RC, Patrinos GP: HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations. Hum Mutat 2007, 28:206.
6. Forget BG: Molecular mechanisms of beta thalassemia. In Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR. Et al.,eds. Disorders of hemoglobin. New York:Cambridge University press,252.2001.
7. Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR and Wood WG.The hemoglobinopathies. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B and Vogelstein B (eds) The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th edn. New York: McGraw-Hill ,2000 .
8. Hillman RS, Ault KA. Thalassemia :In Hematology in clinical Practice,a Guide to Diagnosis and Management. 3th Ed, Mc Graw-Hill 2002, 62-76.
9. Handin RI ,Lux IV SE. , Stossel TP. Blood principle and practice of hematology , 2th Ed , Lippincott Williams & Wilkins Co ., 1513 , 2003.

10. Kattamis C, Kattamis AC: Oxidative stress disturbances in erythrocytes of beta-thalassemia. Pediatr Hematol Oncol 2001, 18:85–88. 25.
11. Celedon G, Rodriguez I, Espana J, et al.: Contribution of hemoglobin and membrane constituents modification to human erythrocyte damage promoted by peroxyl radicals of different charge and hydrophobicity. Free Radic Res 2001, 34:17–31.
12. Stanley L, Schrier MD :Pathophysiology of thalassemia. Curent Opinion in Hematology 2002 ,9:123-126.
13. Tavazzi D, Duca L, Grazidei G, et al.: Membrane-bound iron contributes to oxidative damage of beta-thalassemia intermedia erythrocytes. Br J Haematol 2001, 112:48–50.
14. Prabhu R, Prabhu V , et al: Iron overload in beta thalassemia.J Biosci Tech 2009; 1(1):20-31.
15. Borgna-Pignatti C, Cappellini MD, De Stefano P, et al :Survival and complications in thalassemia**.** Ann N Y Acad Sci 2005,1054:40-47.
16. Saffari F,Mahyar A,Jalilolgadr S: Endocrine and metabolic disorders in thalassemia major patients.Caspian J Intern Med 2012; 3(3): 466-472.
17. Malik S, Syed S, Ahmed N:Complications in transfusion–dependent patients of ß-thalassemia major:A review.Pak J Med Sci 2009;25(4):678-682.
18. Hahalis G, Alexopoulos D, Kremastinos DT Zoumbos NC: Heart failure in beta thalassemia syndromes: a decade of progress. Am J Med 2005;118:957-67.
19. Borgna-Pignatti C, Cappellini MD, De Stefano PD, et al: Cardiac morbidity and mortality in deferoxamine- or deferiprone-treated patients with thalassemia major. Blood 2006;107(9):3733-7.

20. Aessopos A, Farmrkis D, Deftereos S, Tsironi M, Tassiopoulos S, Moyssakis I, et al: Thalassemia heart disease, a comparative evaluation of thalassemia major and thalassemia intermedia. Chest 2005;127:1523-30.
21. Mohammadian S, Bazrafshan HR, Sadeghi-Nejad A. Endocrine gland abnormalities in thalassemia major: A brief review. Pediatr Endocrinol Metab 2003;16:957-64.
22. Toumba M, Sergis A, Kanaris C, Skordis N. Endocrine complications in patients with Thalassemia major: Pediatric Endocrinol Rev 2007;5(2):642-8.
23. Skordis, N. The growing child with thalassaemia. J Pediatr Endocrinol Metab 2006; 19(4):467-469.
24. Chern JPC, Lin KH, Lu MY, Lin DT, Lin KS, et al. Abnormal glucose tolerance in transfusion-dependent beta-thalassemic patients Diabetic Care 2001;24:850-4.
25. Zervas A, Katopodi A, Protonotariou A, Livadas S, Karagiorga M, Politis C. Assessment of thyroid function in two hundred patients with beta-thalassemia major. Thyoid 2002;12:151-4.
26. Al-Elq AH, Al-Saeed HH, Endocrinopathies in patients with thalassemias. Saudi Med J 2004;25(10):1347-51.
27. Perifanis V, Tziomalos K, Tsatra I, Karyda S, Patsiaoura K, Athanassiou-Metaxa M. Prevalence and severity of liver disease in patients with beta thalassemia major. A single-institution fifteen year experience.Haematologica 2005;90:1136-38.
28. Ponticelli C, Musallam KM, Cianciulli P, Cappellini MD: Renal complications in transfusion-dependent beta thalassaemia.Blood Rev 2010; 24: 239–244.

29. Bhandari S ,Galanello R: Renal aspects of thalassaemia a changing paradigm . Europ J Haematol 2012 ;89 :187- 197 .
30. Mallat NS,Mallat SG,Musallam KM:Potential mechanisms for renal damage in bete thalassemia .JN EPHROL 2013 ;26(5):821-828.
31. Smolkin V, Halevy R, Levin C, et al. Renal function in children with beta-thalassemia major and thalassemia intermedia.Pediatr Nephrol 2008;23:1847-51.
32. Ali D, Mehran K, Moghaddam AG. Comparative evaluation of renal findings in Beta-thalassemia major and intermedia.Saudi J Kidney Dis Transpl 2008;19:206–9.
33. Koliakos G, Papachristou F, Koussi A, Perifanis V, Tsatra I, Souliou E, Athanasiou M: Urine biochemical markers of early renal dysfunction are associated with iron overload in beta-thalassaemia. Clin Lab Haematol2003; 25: 105–109.
34. Aldudak B, Karabay Bayazit A, Noyan A, et al. Renal function in pediatric patients with beta-thalassemia major. Pediatr Nephrol 2000;15:109-12.
35. Quinn CT, Johnson VL, Kim HY, Trachtenberg F, Vogiatzi MG, Kwiatkowski JL, Neufeld EJ,Fung E, Oliveri N,et al.Thalassemia Clinical Research Network: Renal dysfunction in patients with thalassaemia. Br J Haematol 2011; 153: 111–117.
36. Sadeghi BS, Hashemi M, Karimi M. Renal tubular function in patients with beta thalassemia major in Zahedan, southeast Iran. Singapore Med J. 2008;49:410-12.
37. Mohkam M, Shamsian BS, Gharib A, rt al. Early markers of renal dysfunction in patients with beta-thalassemia major. Pediatr Nephrol. 2008;23:971-6.

38. Zhou XJ, Laszik Z, Wang XQ, Silva FG, Vaziri ND: Association of renal injury with increased oxygen free radical activity and altered nitric oxide metabolism in chronic experimental hemosiderosis.Lab Invest 2000; 80: 1905–1914.
39. Khaled M , Ali T : Mechanisms of renal disease in beta-thalassemia. J Am Soc Nephrol 2012;23 : 1299 - 1302.
40. Kassab-CA, Laradi S, Ferchichi S, Haj K A, Feki M, Amri F, Selmi H, Bejaoui M, Miled A: Oxidant, antioxidant status and metabolic data in patients with beta-thalassemia.Clin Chim Acta 2003; 338: 79–86.
41. Kokoszko A, Dabrowski J, Lewi A,Karbownik-LM: Protective effects of GH and IGF-I against iron-induced lipid peroxidation in vivo. Exp Toxicol Pathol 2008; 60:453–458.
42. Zager RA, Johnson AC, Hanson SY: Parenteral iron nephrotoxicity: Potential mechanisms and consequences. Kidney Int 2004; 66: 144–156.
43. Zager RA, Johnson AC, Hanson SY: Proximal tubular cytochrome c efflux:Determinant,and potential marker, of mitochondrial injury.Kidney Int 2004;65: 2123–2134.
44. Fibach E, Rachmilewitz E: The role of oxidative stress in hemolytic anemia. Curr Mol Med 2008; 8: 609–619.
45. Nagababu E, Gulyani S, Earley CJ, Cutler RG, Mattson MP, Rifkind JM: Iron-deficiency anaemia enhances red blood cell oxidative stress. Free Radic Res 2008; 42: 824–829.
46. Du W, Adam Z ,Rani R , Zhang X, Pang Q.Oxidative stress in fanconi anemia hematopoiesis and disease progression . Antioxid Redox Signal 2008; 10:1909-21.

47. Nangaku M.Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury :a final common pathway to end- stage renal failure .J Am Soc Nephrol 2006; 17:17-25.
48. Naicker S,Fabian J,Naidoo S, Wadee S,Paget G ,Goetzch S:Infection and glomerulonephritis .Semin Immunopathol 2007; 29:397- 414.
49. Francoz C ,Glotz D , Moreau R , Durand F : The evaluation of renal function and disease in patients with cirrhosis . J Hepatol 2010; 52:605-613.
50. Reinglas J,Haddad H, Davies RA ,Mielniczuk L: Cardiorenal syndrome and heart failure . Curr Opin Cardiol 2010; 25:141-147.
51. Galanello R, Origa R : Beta -thalassemia : A review. Orphanet Journal of Rare Diseases 2010, **5**:11.
52. Thalassemia International Federation: Guidelines for the clinical management of thalassemia 2nd edition. 2008 [http://www.thalassemia.org.cy].
53. Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, De Stefano P, et al., Survival and complications in patients with thalassemia major reated with transfusion and deferoxamine, Haematologica 2004;89:1187–93.
54. Chen SH, Liang DC, Lin HC, et al.,Auditory and visual toxicity during deferoxamine therapy in transfusion dependent patients, J Pediatr Hematol Oncol 2005;27:651–3.
55. Galanello R: Deferiprone in the treatment of transfusion-dependent thalassemia: a review and perspective**.** Ther Clin Risk Manag 2007;3:795-805.
56. Cohen AR, Galanello R, Piga A, et al., Safety and effectiveness of long-term therapy with the oral iron chelator deferiprone. Blood 2003;102:1583–7.

57. Hoffbrand AV, Cohen A, Hershko C, Role of deferiprone in chelation therapy for transfusional iron overload. Blood 2003;102:17–24.
58. Cappellini MD, Cohen A, Piga A, et al., A phase 3 study of deferasirox (ICL670) a once-daily oral iron chelator in patients with beta-thalassemia.Blood 2006;107:3455–62.
59. Galanello R, Origa R: Once-daily oral deferasirox for the treatment of transfusional iron overload**.** Ex Rev of Clin Pharma 2008; 1:231-240.

60-De Sanctis V: Growth and puberty and its management in thalassemia**.**Horm Res 2002; 58:72-79.

60. De Sanctis V: Growth and puberty and its management in thalassemia. Horm Res 2002:58:72-79.
61. Clajus C, Becker JU, Stichtenoth DO, Wortmann J, Schwarz A, Kielstein JT. Acute kidney injury due to deferoxamine in a renal transplant patient. Nephrol Dial Transplant 2008;23:1061–4.
62. Brosnahan G, Gokden N, Swaminathan S . Acute interstitial nephritis due to deferasirox :a casa report .Nephrol Dial Transplant 2008;23 : 3356-8.
63. Grange S,Bertrand DM,Guerrot D,Eas F,Godin M.Acute renal failure and fanconi syndrome due to deferasirox.Nephrol Dial Transplant 2010 ;25:2367-8.
64. Levi S,Rovida E. The role of iron in mitochondrial function.Biochin Biophys Acta 2009;1790:629-36.
65. Brenner B.M. Brenner & Rector's The Kidney :Laboratory Assessment Of The Kidney Disease : Clearance , Urinalysis , & Kidney Biopsy . 8th Ed vol.1 , Saunders (2007) ; 724-750
66. Watanabe K. Biochemical studies on carbohydrates. J Biochem (Tokyo) 1936;24:297

67. Mark BL, Mahuran DJ, Cherney MM, Zhao D, Knapp S, James MN . Crystal Structure of Human β-Hexosaminidase B: Understanding the Molecular Basis of Sandhoff and Tay–Sachs Disease. J. Mol. Biol 2003; **327** (5): 1093–1109 .
68. Siddiqui IA.Influence of N-acetyl-ß-D-glucosaminidase (NAG) excretion on renal and non-renal disease states –A literature review. Health n fitness 2009.
69. Skalova S ,Chladek J . Urinary N-acetyl-ß-D-glucosaminidase activity in health children .Nephrology 2004;9:19-21.
70. Gonick HC, Kramer HJ, Schapiro AE. Urinary ß-glucuronidase activity in renal disease. Arch Intern Med 1973;132:63-9.
71. Csathy L , Pocsi I .N-acetyl-ß-D-glucosaminidase in newborns and children .Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1995; 33:575-587.
72. Robinson D, Stirling S. N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase in human spleen. Biochem J 1968; 107:321-7.
73. Geiger, B. ,Arnon, R. (1976) Biochemistry 15, 3484-3493.
74. Marinkovic, D. V. & Marinkovic, J. N. (1977) Biochem. J.163, 133-140.
75. Stirling, J. L. (1972) Biochem. Biophys. Acta 271, 154-162.
76. Price, R. G. , Dance, N. (1972) Biochim. Biophys. Acta 271,145-153.
77. Grebner, E. E. , Tucker, J. (1973) Biochim. Biophys. Acta 321, 228-233.
78. Braidman, I., Carroll, M., Dance, N. & Robinson, D.(1974) Biochem. J. 143, 295-301.
79. Ellis, B. G., Tucker, S. M., Thompson, A. E. ,Price, R. G. (1975) Clin. Chim. Acta 64,195-202.
80. Srivastava S Beutler E: Hexosaminidase A and hexosaminidase B: studies in Tay-Sachs disease and Sandhoff's disease. *Nature* 241 :463. 1973.

81. Cordeiro P .Human hexosaminidase Databases and modelling analysis.National Library of Canada .2000.
82. Lemieux MJ, Mark BL, Cherney MM, Withers SG, Mahuran DJ , James MN.Crystallographic Structure of Human β-Hexosaminidase A:Interpretation of Tay-Sachs Mutations and Loss of GM2 Ganglioside Hydrolysis.J Mol Biol 2006; 359(4): 913–929.
83. US National Library of Medicine. (2008,September). Retrieved December 16, 2013, from Genetics Home References: http://ghr.nlm.nih.gov/gene=hexa .
84. US National Library of Medicine. (2008, September). Retrieved December 16, 2013, from Genetics Home References: http://ghr.nlm.nih.gov/gene=hexb.91
85. Tse R .Characterization of the active site of β-Hexosaminidase.National Library of Canada .1998.
86. US National Library of Medicine. (2008, September). Retrieved December 16, 2013, from Genetics Home References: http://ghr.nlm.nih.gov/gene=GM2A
87. Wright CS, Li SC, Rastinejad F. Crystal structure of human GM2-activator protein with a novel beta-cup topology. J Mol Biol 2000;304:411–422.
88. Kolter T,Winau F,Schaible UE,Leippe M,Sandhoff K .Lipid-binding Proteins in Membrane Digestion, Antigen Presentation, and Antimicrobial Defense.J. Biol. Chem. 2005; 280:41125-41128.
89. Walker PG , Pugh D . The localization of n-acetyl-β-D-glucominidase in tissue. J. Histochemistry & Cytochemistry **2013**;9(3) :242-250.

90. Bourbouze R, Baumann FC , Bonvalet J P, Farman N . Distribution of N-acetyl-β-D-glucosaminidase isoenzymes along the rabbit nephron .Kidney International. 1984 ; 25 : 636—642.
91. Emeigh Hart SG. Assessment of renal injury in vivo. J. Pharmacol. Toxicol. Methods 2005;52:30–45.
92. Ozand PT, Nyhan WL, Barshop BA . Part Thirteen Lipid Storage Disorders: Tay-Sachs disease/hexosaminidase A deficiency. Atlas of metabolic diseases. London: Hodder Arnold 2005; 539–546.
93. Skalova S, Rejtar P,Kuyilek S .urinary n-acetyl-β-D-glucominidase in children with vesicoureteral reflux . Bratisl lek listy 2009;110(2):69-72 .
94. Zock-Zwier W, Kepka A, Tomaszewska B, et al. Assessment of fructose-1,6-biphoshatase in urine of children with acute pyelonephritis. Pol Merkuriusz Lek 2004; 16(91): 56-9.
95. Mohkam M, Karimi A,Habibian S,Sharifian M.Urinary N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase as a Diagnostic Marker of Acute Pyelonephritis in Children .IJKD 2008;2:24-8.
96. Tassi C, Mancuso F, Feligioni L, Marangi M, Capodicasa E. Expression modes of urinary n-acetyl-β-D-glucominidase in patients with chronic renal insufficiency. Clinica Chimica Acta 2004; 346: 129-133.
97. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, et al. Urinary N-actyl-beta-D-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. Nephrol Dial Transplant 2002; 17(11);1890-6.
98. Bardi E,et al .Late effects on renal glomerular and tubular function in childhood cancer survivors. Pediatr Blood cancer 2004;43 :668-673.
99. Kralickova P, Melichar B, Malir F, Roubal T. Renal tubular dysfunction and urinary zinc excretion in breast cancer patients treated with

anthracycline-based combination chemotherapy. J Exp Clin Cancer Res 2004; 23(4):579-84.

100. Mazaheri M,Samaie A,Semnani V. Renal tubular dysfunction measured by N-acetyl beta glucosaminidase/Creatinine activity index in children receiving antiepileptic drugs: a randomized controlled trial.Italian Journal of Pediatrics 2011; 37:21.

101. Salem MAK, E1-Habashy SA, Saeid OM, E1-Tawil MMK,Tawfik PH.Urinary excretion of n-acetyl-β-D-glucosaminidase and retinol binding protein as alternative indicators of nephropathy in patients with type1 Diabetes Mellitus. Pediatr Diabetes 2002; 3:37-41.

102. Mungan B,Yuksel M, Bakman A, Topaloglu K, Ozer G. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in Type I Diabetes Mellitus. Indian Pediatr 2003; 40:410-414.

103. Ambad v,Singh p,Somani BL,Basannar D.Urinary n-acetyl-β-D-glucosaminidase and Gamma Glutamyl transferase as early markers of diabetic nephropathy . .Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2006; 21 (2) 142-148.

104. Fathy M , et al .Estimation of Renal Tubular Markers for Predicting Early Stage Diabetic Nephropathy in Egyptian Children with Type I Dibetes Mellitus . Res. J. Medicine & Med. Sci 2009; 4(2): 207-211.

105. Gatua .W.K, et al. Evaluation of Urinary Tubular Enzymes as Screening Markers of Renal Dysfunction in Patients Suffering from Diabetes Mellitus.Asian Journal of Medical Sciences 2011; 3(3): 84-90.

106. Hong CY, Chia KS, Ling SL. Urinary protein excretion in Type 2 diabetes with complications. J Diabetes Complications 2000; 14: 259-265.

107. Piwowar A, Kordecka MK,Fus I,Warwas M. Urinary activities of cathepsin B, N-acetyl-b-D- glucosaminidase, and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus .Med Sci Monit 2006; 12(5): 210-214.

108. TylickI L, Manitius J, Lysiak-Szydlowska W, Ruthowski B. Tubular injury : the first symptom of hypertensive kidney involvement. Med Sci Monit 2003; 9(4):CR187-193.

109. Mohsen M.A ,et al.Urinary N-actyl-beta-D-glucosaminidase a marker of tubular dysfunction in patients with system lupus erythematosus.Kidney Res .J.2012;2(1) 1-11.

110. Marks SD, Shah V, Pilkington C, Woo P, Dillon MJ. Renal tubular dysfunction in children with system lupus erythematosus. Pediatr Nephrol 2005; 20(2):141-8 .

111. Semezuk-Sikora A, Sikora P, Biadun U, Semezuk M. Urinary N-actyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) excretion in women with pregnancy complicated with hypertension. Glinekol Pol 2003; 74(10):1267-75.

112. Hamed EA,Elmelegy NT.Renal function in patients with beta thalassemia major :relation to chelation therapy. Italian Journal of pediatrics 2010; 36:39.

113. Younus ZM,Alhially Y,Bashi A.Evaluation of conventional renal function tests in beta thalassemia major patients in nineveh province. Tikirit journal of pharmaceutical sciences 2012 ; 8(1).

114. Mensi K ,et al. Biochemical factors relevant to kidney functions among Jordanian children with beta-thalassemia major treated with deferoxamine .International Journal of Medicine and Medical Sciences 2013; 5(8):473-479.

115. Ismail N ,et al.Impact of Splenectomy and Chelating Agents on Serum Cystatin C Levels in Egyptian Children With Beta-Thalassemia. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2012 ;6(2): 85-89.

116. Doddamani P , et al. Importance of assessment of microalbuminuria in beta thassemia major patients.International Journal of Health & Allied Sciences ,2012, 1(4) :235-238.

117. Fathi F , et al.Evaluation of conventional renal function tests in patients with beta thalassemia major using deferasirox. Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences 2013;11(2) :1-9.

118. Jalali A , et al.Renal function in transfusion-dependent pediatric beta-thalassemia major patients.Hematology 2011; 16(4) 249-253.

119. Voskaridou E, Terpos E, Mizhail S, Hantzi E, Anagnostopoulos A, Margeli A, et al. Early marker of renal dysfunction in patients with sickle cell/b-thalassemia. Kidney Int 2006;69:2037–42.

120. Safaei ASL, et al. Urine β2 microglobulin and other biochemical indices in β-thalassemia major. Acta Medical Iranica 2009 ;47: 443–446.

121. Morsi M , et al.Splenectomized versus non Splenectomized patients with thalassemia major.Saudi Med 2008;29(9):1310-1314.

122. Taher A, Musallam k, 2009. Rassi F, Duca L, Inati A, Koussa S and Cappellini M, 2009. Br J Haematol., 146(5): 569-72.

123. SUMBOONNANONDA, A., MALASIT, P., TANPHAICHITR, V. S., PETRARAT, S. O. & VONGJIRAD, A. Renal tubular dysfunction in alpha-thalassemia, Pediatric Nephrology 2003 ;18: 257–260.